

THESE DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS-SUD - CENTRE D'ORSAY

par

M. COSTIN-PAUL POPESCU

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

Sujet de la Thèse : Observations cytogénétiques chez Bos taurus L.

Soutenue le 16 JUIN 1971

devant la Commission d'Examen

MM. DEMARLY, Président

GENERMONT }
MERAT } Examineurs

N° d'enregistrement
au C.N.R.S.

THESE DE DOCTORAT D'ETAT ES SCIENCES NATURELLES

présentée

A L'UNIVERSITE PARIS-SUD - CENTRE D'ORSAY

par

M. COSTIN-PAUL POPESCU

pour obtenir

le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

Sujet de la Thèse : Observations cytogénétiques chez Bos taurus L.

Soutenue le

devant la Commission d'Examen

MM. DEMARLY, Président

GENERMONT }
MERAT } Examineurs



A mon père.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41556020_0009

REMERCIEMENTS

C'est pour moi l'occasion de témoigner ma reconnaissance au Professeur A. CARATZALI car je lui dois de m'avoir enseigné, au départ, les cultures cellulaires et les techniques de base de la cytogénétique.

Je tiens à remercier Monsieur M. GILLOIS pour la gentillesse avec laquelle il m'a accueilli dans son Laboratoire et pour ses encouragements.

Monsieur le Professeur Y. DEMARLY m'a fait l'honneur de bien vouloir présider le Jury de cette thèse. Je lui exprime ma respectueuse reconnaissance pour sa bienveillance et pour ses précieux conseils.

Je remercie aussi le Professeur GENERMONT qui a accepté de participer à ce Jury. Je le remercie également pour les suggestions et les remarques qu'il m'a dispensées.

Je dois aussi beaucoup à Monsieur MERAT qui a bien voulu relire et corriger ma thèse. Je l'en remercie et lui exprime ma reconnaissance pour sa patience et ses suggestions.

Je remercie la Direction de l'Institut National de la Recherche Agronomique qui m'a accordé une bourse me permettant ainsi de mener à terme ce travail. Ainsi que Monsieur POLY, Directeur du Département de Génétique, pour le soutien qu'il m'a toujours accordé.

Je remercie enfin tous ceux qui ont participé à la réalisation pratique de cette thèse, Madame SIMONNOT en particulier, pour l'avoir dactylographiée et Monsieur CHEVREUIL qui l'a imprimée et reliée avec soin.

- PLAN DE LA THESE -

INTRODUCTION.

Remarques sur la terminologie.

CHAPITRE I - Analyse critique des techniques et résultats acquis antérieurement.

- Résultats acquis en cytogénétique humaine et animale.

CHAPITRE II - Matériel et Méthodes.

CHAPITRE III - Les chromosomes somatiques de Bos taurus L.

1. Nombre chromosomique.
2. La morphologie des chromosomes.
 - Les autosomes.
 - Les chromosomes sexuels.
3. Le caryotype.
4. L'idiogramme.

CHAPITRE IV - Les chromosomes méiotiques.

1. Les stades préméiotiques.
2. Les stades méiotiques.
 - a. Les spermatocytes primaires.
 - b. La vésicule sexuelle et le bivalent sexuel.
 - c. Les spermatocytes secondaires.

CHAPITRE V - Le caryotype des hybrides Bos taurus x Bos grunniens.

CHAPITRE VI - Le caryotype des bovins "culards".

CHAPITRE VII - Le rapport X/autosomes chez Bos taurus L., et quelques espèces voisines.

RECAPITULATIONS ET CONCLUSIONS.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

INTRODUCTION

=====

Dans tous les domaines de recherche, la découverte d'une technique nouvelle d'investigation ou d'un sujet d'étude adéquat, détermine un développement considérable des recherches et augmente le volume des connaissances.

Les chromosomes polyténiques de *Drosophila* ont fourni un remarquable sujet d'étude sur le substrat matériel et les mécanismes de l'hérédité. Les études au niveau des organismes inférieurs présentaient alors un retard important en raison des difficultés techniques. L'obtention de préparations chromosomiques d'une qualité acceptable posait à l'époque des problèmes insurmontables.

Aux environs des années 50, la mise au point de nouvelles techniques cytogénétiques chez l'homme et les mammifères ont déclenché un véritable essor des recherches cytogénétiques. Grâce à ces nouvelles techniques l'obtention de préparations chromosomiques de bonne qualité est devenue possible, en utilisant des cellules somatiques ou germinales.

La découverte en 1959 de la trisomie 21 chez les mongoliens, a ouvert la voie de la pathologie chromosomique. Durant les dix dernières années, un nombre impressionnant de données s'est accumulé, surtout dans la cytogénétique humaine et a révélé la fréquence inquiétante des anomalies chromosomiques.

Partant du postulat fondamental de la cytogénétique, la constance du caryotype pour une espèce donnée, les résultats acquis dans les recherches cytogénétiques sont utilisés dans plusieurs domaines de la biologie. Des études de systématique,

phylogénie, spéciation et même la théorie de l'évolution des espèces, considèrent actuellement le critère chromosomique.

Cependant la cytogénétique a ses limites imposées, d'une part par l'objet d'étude et d'autre part, par les moyens techniques. Ainsi, le nombre de cellules étudiées reste infime par rapport à la variété et la complexité d'un organisme. En plus, un certain nombre d'anomalies chromosomiques à effet létal présentes dans les stades embryonnaires précoces, seraient éliminées avant la naissance et échapperaient ainsi à l'observation. Quant aux moyens techniques, en dépit des progrès accomplis, la mise en évidence d'une petite translocation ou inversion chromosomique, ou bien la découverte d'une faible mosaïque, restent souvent à la limite du possible.

Le travail présent traite des aspects normaux des chromosomes somatiques et méiotiques du boeuf domestique (*Bos taurus* L.) ainsi que de quelques cas particuliers, tels les bovins culards et les hybrides obtenus entre le boeuf et le Yak. Il a été commencé en 1965 dans le Département de Génétique de l'Institut de Recherches Zootechniques de BUCAREST. Entre 1967 et 1968, grâce à une bourse accordée par le Gouvernement Français, nous avons pu poursuivre le travail dans le Département de Génétique du C.N.R.Z. à JOUY-en-JOSAS. En 1969, il a été poursuivi dans le même Département de l'Institut de BUCAREST et achevé à la fin de 1970 dans le Département de Génétique du C.N.R.Z. - Jouy-en-Josas - grâce à une bourse accordée par la Direction de l'I.N.R.A., durant cette année.

Après une mise au point de la terminologie, le premier chapitre traite de l'évolution des techniques d'investigation et

des résultats acquis par leur utilisation. On montre en effet que les techniques anciennes telles les coupes histologiques, en dépit du talent des chercheurs et d'un travail considérable, limitaient le champ d'investigation et influaient sur l'exactitude des résultats. Ensuite, les éléments qui ont contribué à la mise au point de nouvelles techniques sont passés en revue, ainsi que les résultats acquis chez l'homme et les mammifères, et particulièrement chez les animaux domestiques.

Dans le deuxième chapitre sont décrites les techniques de cultures cellulaires et d'obtention des préparations chromosomiques qui ont été utilisées dans ce travail.

Le chapitre suivant traite des chromosomes somatiques du boeuf, de leur nombre, leur morphologie et les possibilités de les disposer dans un caryotype et d'analyser ce dernier à l'aide d'un idiogramme.

Dans le quatrième chapitre sont décrites les différentes phases de la division méiotique en liaison avec le comportement des chromosomes. Les chromosomes sexuels font l'objet d'un sous-chapitre.

Certaines caractéristiques morphologiques et chromosomiques des hybrides *Bos grunniens* x *Bos taurus* sont présentées dans le chapitre suivant. On essaye de donner une explication sur les causes de la stérilité de ces hybrides et des hybrides interspécifiques en général.

Dans le sixième chapitre est présenté l'aspect des chromosomes dans le cas d'une anomalie des bovins, le caractère

culard.

Le dernier chapitre traite du rapport entre le chromosome x et le complément haploïde chez le boeuf et d'autres espèces domestiques qui confirme l'appartenance de ces espèces au type originel de chromosome x.

REMARQUES SUR LA TERMINOLOGIE

L'utilisation d'un langage cohérent s'impose dans toute activité de recherche. Dans la cytogénétique, à cause de l'accumulation d'un nombre important de connaissances nouvelles dans un temps relativement court, on remarque certains termes utilisés d'une façon confuse ou contradictoire. A l'occasion de plusieurs rencontres internationales on a essayé d'établir une terminologie précise et il serait souhaitable qu'elle soit universellement adoptée.

Dans ce travail nous avons utilisé, pour la désignation de différents types de chromosomes, suivant la position de leurs centromères, la nomenclature proposée par LEVAN (1965). Pour l'analyse d'un caryotype et la présentation des résultats, nous avons adopté les recommandations de la Conférence de CHICAGO (1966). Une série de termes d'utilisation courante mais souvent erronée, sont présentés et expliqués dans ce chapitre.

Caryotype - Les chromosomes d'une seule cellule rangés dans une série décroissante d'après leur taille et la position du centromère.

Caryogramme - La représentation graphique des chromosomes d'une espèce obtenue sur la base des mesures de plusieurs cellules et considérée comme représentative pour cette espèce.

Longueur relative - La longueur réelle d'un chromosome rapportée à la longueur totale de tous les chromosomes d'une cellule et exprimée en pour mille.

Index centromérique - Le rapport entre le bras court et la longueur totale d'un chromosome, exprimé en pourcentage.

Le rapport des bras - Le rapport entre le bras long et le bras court d'un chromosome.

Système Denver - Modèle de classification des chromosomes humains établis à la Conférence de Denver, 1960.

Chromosome métacentrique - Chromosome au centromère médian.

Chromosome submétacentrique - Chromosome avec le centromère situé dans la région submédiane.

Chromosome acrocentrique - Chromosome avec le centromère situé dans la région terminale.

Chromosome télocentrique - Chromosome au centromère terminal.

Duplication - Duplication supplémentaire d'un fragment chromosomique qui reste isolé ou s'attache à un autre chromosome.

Délétion - Cassure d'un fragment de chromosome qui sera éliminé s'il ne contient pas le centromère ou qui sera gardé (chromosome délété) si il le contient.

Inversion - Fragment de chromatide disposé en ordre inverse à la suite d'une délétion ; elle est paracentrique si le centromère ne se trouve pas sur le fragment inverse et pericentrique si le centromère s'y trouve.

Translocation - Echange de fragments entre deux chromosomes non homologues.

Nombre fondamental (N.F.) - Le nombre total des bras d'un caryotype, indépendamment du nombre et de la forme des chromosomes.

Translocation robertsonienne - Translocation réciproque suivie d'une fusion.

Série robertsonienne - Espèces apparentées qui possèdent le même nombre fondamental mais un nombre différent de chromosomes à cause d'une translocation robertsonienne.

Mosaïque cellulaire - La présence dans le même organisme de deux populations cellulaires à caryotype différent.

Coefficient de terminalisation - Le rapport entre le nombre de chiasmas terminaux et le nombre total de chiasmas.

Index de recombinaison - Le nombre haploïde des chromosomes d'une espèce plus le nombre moyen de chiasmas.

I - ANALYSE CRITIQUE DES TECHNIQUES ET RESULTATS ACQUIS ANTERIEUREMENT.

Avant la découverte des nouvelles techniques cytogénétiques, les études chromosomiques s'effectuaient sur des coupes histologiques. Une cellule en division était étudiée dans une ou plusieurs coupes sériées et en faisant varier la vis micrométrique on essayait la reconstitution des chromosomes dans un seul plan. Le travail était fastidieux et, le plus souvent, donnait des résultats imprécis ; la morphologie des chromosomes était altérée par le couteau du microtome et leur nombre dénaturé par la reconstitution de plusieurs plans d'observation. A cause de ces difficultés techniques et aussi du mauvais choix du matériel d'étude, avant 1956, l'homme ignorait le nombre exact de ses

chromosomes.

Les techniques actuelles sont basées sur plusieurs éléments qui ont rendu possible l'obtention des préparations chromosomiques de bonne qualité, l'analyse précise du nombre et de la morphologie des chromosomes et déterminé l'essor des recherches cytogénétiques.

Un premier élément important dans le développement de ces techniques a été l'utilisation des cultures cellulaires comme source de cellules en division. KEMP, en 1929, est le premier à utiliser les cultures de tissus pour l'étude des mitoses somatiques et KRUTSCHOV et BERLIN (1935) étudient pour la première fois les chromosomes humains en cultures de leucocytes.

En 1953, le traitement hypotonique introduit par HSU et POMERAT, améliore considérablement la qualité des préparations chromosomiques. Des cellules en division subissant un choc hypotonique augmentent plusieurs fois le volume de leur noyau et les chromosomes s'éparpillent à l'intérieur de celui-ci.

En appliquant la méthode des cultures cellulaires et le traitement hypotonique, TJIO et LEVAN, en 1956, décrivent pour la première fois le nombre et la forme exacte des chromosomes humains. A partir de cette date les études de l'aspect normal du caryotype humain se multiplient et des travaux de révision à l'aide des nouvelles techniques sont entreprises chez de nombreuses espèces de mammifères.

En 1959, la découverte par une équipe française (LEJEUNE, GAUTIER, TURPIN) de la trisomie 21 chez les mongoliens, ouvre la

voie de la pathologie chromosomique.

Dans les années suivantes de nouveaux procédés techniques ont encore amélioré la qualité des préparations chromosomiques et élargi le domaine d'investigation. Ainsi, en 1958, ROTHFELD et SIMINOVICI, préconisent la méthode de séchage à l'air (air drying) de la suspension cellulaire qui remplacera le procédé d'écrasement ("squash") utilisé jusqu'alors. Les cellules qui avaient précédemment subi le choc hypotonique, fixées et traitées par le procédé, donnent des préparations avec des chromosomes disposés en un seul plan, sans chevauchement et parfaitement identifiables.

Pour augmenter le nombre de cellules en métaphase, le stade le plus propice à l'analyse, on a introduit l'emploi de la colchicine couramment utilisée auparavant dans la cytogénétique végétale.

A part les cultures cellulaires à long terme, les travaux de recherche à grande échelle imposaient l'existence d'une source de cellules en division facile à prélever chez l'homme et les mammifères. A l'aide de la phytohaemagglutinine et de son pouvoir déclencheur de la division des lymphocytes, le sang périphérique est devenu l'objet d'étude chromosomique le plus souvent utilisé. La phytohémagglutinine est une mucroprotéine isolée par RIGAS et OSGOOD (1955) à partir des grains d'une certaine variété d'haricot. Utilisé d'abord pour ses propriétés de précipitation et d'agglutination des globules rouges, on lui découvre, plus tard, la capacité de déclencher la division des lymphocytes cultivés "in vitro", cellules qui, normalement ne se divisent pas.

En dépit de son utilisation courante, le mécanisme d'action de la phytohémagglutinine sur la division cellulaire est peu connu. Certains auteurs affirment que la PHA précipiterait les protéines sériques qui auraient un rôle inhibiteur sur la mitose (BECKMAN, 1962). D'autres pensent qu'elle agirait comme antigène sur les lymphocytes en les transformant en cellules productrices d'anticorps et blastiques. Il semble que ces deux processus, la formation des anticorps et la division, soient simultanés (PERMAIN et coll., 1963). Selon PERMAIN et coll., la tuberculine pourrait agir de la même façon que la PHA dans les cultures humaines de lymphocytes s'ils proviennent d'un organisme sensible (à la tuberculine).

Tous ces nouveaux éléments techniques corroborés rendent aujourd'hui possible l'étude cytogénétique sur des cellules des différents tissus d'organismes supérieurs. En utilisant certains de ces procédés, plusieurs techniques simples et rapides ont été mises au point, facilitant l'examen chromosomique de la moelle osseuse et des cellules germinales.

Des progrès remarquables ont été enregistrés par l'introduction de la technique du marquage radioactif, à l'aide de la thymidine tritiée. Basée sur le fait que cet isotope est incorporé d'une façon sélective par l'ADN, cette technique permet l'étude séquentielle de la synthèse d'ADN au niveau de chaque chromosome. Elle est utilisée dans les études du comportement des chromosomes sexuels, à l'identification du chromosome X et de certains autosomes, parfois indispensables dans la mise en évidence d'une translocation entre un autosome et l'X. La découverte du phénomène de l'inactivation du chromosome X est en

grande partie d  e à l'emploi de la technique d'auto-radiographie.

RESULTATS ACQUIS EN CYTOGENETIQUE HUMAINE ET ANIMALE.

Les chromosomes humains ont été décrits pour la première fois par FLEMING en 1898, au nombre de 20, dans une cellule de cornée. Deux ans après, HANSEMAN (1891) trouvait, dans trois cellules, trois nombres différents : 18, 24 et 40 chromosomes. WINIWARTER (1912)   tudiait des biopsies testiculaires en coupes histologiques et décrivait 46 autosomes plus un chromosome X chez l'homme, et 46 autosomes et deux chromosomes X chez la femme. PAINTER (1921) identifie le chromosome Y humain. Le chiffre de 48 chromosomes reste admis presque un demi-siècle. En 1956 TJIO et LEVAN, utilisant les techniques nouvelles, ont établi définitivement le nombre exact de chromosomes humains, 46. Dans les années suivantes les études s'amplifient, une quantité importante de données est recueillie et plusieurs essais de classification tentés. Alors, s'imposait avec nécessité un modèle standardisé de classification et une nomenclature précise (des chromosomes humains). Les travaux du Groupe DENVER établissent ce qu'on appelle généralement aujourd'hui la "Classification de DENVER", bien qu'elle ne soit pas parfaite, celle-ci a beaucoup facilité les recherches de cytogénétique humaine. Selon cette classification les chromosomes humains sont rangés d'après leur taille en une série décroissante et divisés en sept groupes désignés par des lettres de A    G. Les chromosomes du complément haplo  ide sont numérotés de 1 à 22, les chromosomes sexuels mis à part. Les chromosomes de chaque groupe ont le centromère situé à peu près dans la même région ; par exemple le groupe A est considéré comme un "groupe de chromosomes métacentriques de grande taille".

La découverte de la trisomie 21 chez les mongoliens (LEJEUNE, GAUTIER, TURPIN, 1959) a été une révélation pour le monde médical ; c'était une première explication valable pour une maladie longtemps étudiée. Très peu de temps après, deux nouveaux faits s'ajoutent au chapitre ouvert de la pathologie chromosomique : les anomalies présentes dans le syndrome KLINEFELTER (constitution XXY) et le syndrome TURNER (constitution XO), fréquemment rencontrés chez l'homme.

La grande liste des anomalies chromosomiques découvertes depuis chez l'homme pourrait-être divisée en deux catégories : les anomalies de nombre et de structure.

A part la trisomie 21, d'autres anomalies de nombre ont été décrites. Ainsi EDWARDS et coll. (1960), décrivent la trisomie 17 et 18, chez des malades atteints de graves déformations du coeur, crâne et membres et PATAU et coll. (1960) observent la trisomie 13 - 15.

Dans les syndromes KLINEFELTER et TURNER les anomalies de nombre affectent les chromosomes sexuels. Les malades atteints du syndrome KLINEFELTER présentent un caryotype à 47 chromosomes (XXY) un faible développement des gonades, avec atrophie des caractères sexuels secondaires, débilité mentale et stérilité. Les femmes turnériennes ont un caryotype à 45 chromosomes (XO), nanisme et débilité mentale. Chez la femme on a décrit des cas de trisomie du chromosome X et même la présence de 2 ou 3 chromosomes X surnuméraires. Chez l'homme, un chromosome Y complémentaire semble provoquer un comportement antisocial marqué.

Plusieurs travaux font état de l'existence chez le même individu d'autosomes supplémentaires et d'une anomalie touchant les chromosomes sexuels. FORD et coll. (1959) ont trouvé une trisomie 21 chez un malade atteint de syndrome KLINEFELTER, ayant donc un caryotype à 48 chromosomes.

Après la découverte de la trisomie 21 s'imposait une explication sur l'origine et le mécanisme d'apparition de ces anomalies. Par défaut de précédents chez l'homme, on a invoqué une théorie de BRIDGES (1921) proposée et vérifiée chez la Drosophile (TURPIN, LEJEUNE, 1965). En étudiant la transmission d'un caractère lié au chromosome X "yeux rouges" à l'état normal, "yeux blancs" à l'état récessif, BRIDGES s'est trouvé devant un phénomène difficilement explicable. Les descendants d'un croisement femelle "yeux blancs" X mâle "yeux rouges" étaient en grande majorité des mâles à "yeux blancs" hémizygotes et des femelles "yeux rouges" hétérozygotes. Dans un pourcentage extrêmement faible apparaissaient des mâles "yeux rouges" et des femelles "yeux blancs". Pour expliquer ce phénomène, BRIDGES invoque un accident durant la première division méiotique : les deux chromosomes X ne se séparent pas et migrent ensemble vers le même pôle. Le résultat serait l'apparition d'un ovule ou d'un spermatozoïde contenant deux chromosomes X. Si deux ovules à deux X sont fécondés par des spermatozoïdes normaux, plusieurs types de zygotes vont résulter : XXY, XO, XXX et YO. Par des études cytologiques BRIDGES vérifie l'existence de trois de ces 4 types zygotiques, le 4°, celui avec une constitution YO étant considéré comme létal.

Ce mécanisme appelé non-disjonction pourrait être transposé chez l'homme et les mammifères en général, pour expliquer

l'apparition des anomalies chromosomiques de nombre, bien qu'il n'y ait pas jusqu'à présent des preuves cytologiques évidentes. Mais l'origine de certains types d'anomalies pourrait être expliquée par une non-disjonction mitotique qui se produirait dans les premiers stades embryonnaires ou bien par des pertes de chromosomes. Une non-disjonction mitotique produite dans les stades embryonnaires précoces peut produire différents types de blastomères anormaux. Les pertes chromosomiques dues à des troubles du mouvement anaphasique deviennent plus fréquentes dans les oeufs ayant subi des irradiations ionisantes ou dans le cas de certains hybrides végétaux.

Parmi les aberrations de structure rencontrées chez l'homme les plus fréquentes sont : les translocations simples ou de type Robertsonian, les délétions, les inversions, les chromosomes en anneau, etc.

Une anomalie de structure, remarquable par sa constance et son intérêt, est la délétion dans le cas du chromosome appelé Philadelphie 1 (Ph 1). En 1960, NOWELL et HUNGERFORD découvrent dans les lymphocytes des malades atteints de leucémie myéloïde chronique, un chromosome, vraisemblablement le 21, aux bras délétés et l'appellent Ph 1. Ce chromosome caractéristique seulement de la leucémie myéloïde chronique, présent dans la quasi-totalité de cellules de la moelle osseuse, représente selon TURPIN et LEJEUNE (1965) le seul variant commun de cette maladie. Son incidence dans les cellules des malades est généralement admise et sa présence est souvent utilisée pour diagnostiquer la leucémie myéloïde chronique.

L'existence d'une liaison cause-effet entre les maladies héréditaires et les anomalies chromosomiques pourrait s'expliquer par une modification du dosage génique. En effet, un chromosome surnuméraire ou un chromosome délété produit un surdosage ou, respectivement, une perte génique qui modifiera le taux de la synthèse enzymatique. La corrélation directe entre l'importance du segment affecté par l'anomalie et le taux de synthèse de l'enzyme contrôlé semble prouvée par des données expérimentales. Ainsi, le chromosome 21 humain est impliqué dans le syndrome DOWN, où il existe en surnuméraire et dans la leucémie myéloïde chronique où il lui manque les bras délétés.

Chez les mongoliens on trouve un taux de synthèse de la phosphatase alcaline plus grand que chez les normaux et chez les leucémiques, au contraire, un taux en dessous de la normale (ALTER et coll. 1962, TRUBOWITZ et coll., 1962). Les mêmes observations ont été faites sur le taux de la galactose-1-phosphate uridyl-transférage, par BRANDT et coll. (1963).

TURPIN et LEJEUNE (1965) ont montré l'intérêt théorique et pratique du rapport entre les anomalies chromosomiques et l'activité enzymatique. Sur le plan théorique une meilleure connaissance de ces faits apporterait des éléments utiles pour dresser une carte génique des chromosomes humains. Du point de vue pratique, bien que les anomalies héréditaires soient incorrigibles, par un traitement adéquat, une amélioration des voies métaboliques troublées pourrait être espérée.

Le développement des recherches de cytogénétique humaine a entraîné un accroissement des études sur les mammifères, jusqu'a-

lors très peu connus du point de vue chromosomique. Après la transposition et l'adaptation chez les animaux, des techniques mises au point chez l'homme, ont été entreprises de nombreuses études de révision du caryotype des espèces qui avaient été étudiées auparavant par les techniques anciennes. Dans la plupart des cas le nombre des chromosomes était inexact et leur morphologie peu connue. Ensuite les recherches se sont orientées vers des espèces dont le caryotype était complètement ignoré. Avec la collaboration des cytogénéticiens de par le monde, HSU et BENIRSCHKE, publient chaque année un volume de l'Atlas of Mammalian Chromosomes qui constitue un précieux inventaire des caryotypes des mammifères.

Des travaux fastidieux ont été entrepris pour étudier les caryotypes d'un grand nombre d'espèces appartenant à certains genres ou familles de mammifères, telles que les Carnivores ou Bovidae["]s (WURSTER, BENIRSCHKE, 1968a, WURSTER, BENIRSCHKE, 1968b).

Pour certains groupes systématiques qui sont actuellement bien connus du point de vue chromosomique, on a pu déchiffrer les voies de l'évolution de leurs caryotypes, les remaniements intervenus au cours de cette évolution ainsi que certaines liaisons phylogéniques. Dans le processus de spéciation, bien que les remaniements chromosomiques ne soient qu'un facteur parmi d'autres leur rôle n'est pas négligeable, en tant que barrière de reproduction.

La formule chromosomique s'est avérée un élément très utile dans les travaux de systématique, étant souvent utilisée

comme un critère taxonomique. Plusieurs espèces critiques ont été mieux définies et ont trouvé leur place dans un groupe systématique, en tenant compte du caryotype.

Les études des chromosomes méiotiques se sont amplifiées, elles aussi, grâce aux nouvelles techniques d'investigations apportant des connaissances nouvelles sur le processus méiotique et sur les chromosomes sexuels. Bien que l'hétérogamétie mâle et l'homogamétie femelle soit la règle générale pour la détermination génétique du sexe chez les Mammifères, plusieurs déviations ont été mises en évidence.

Chez les Monotrèmes, un type tout à fait particulier de digamétie, XO/XX, reflète leur position peu évoluée parmi les Mammifères et pose un problème difficile à résoudre, sur le rôle masculinisant du chromosome Y, reconnu pour la majorité des espèces. Les Marsupiaux ont en général un déterminisme sexuel classique de type XY/XX mais certaines espèces présentent un phénomène peu commun : l'élimination d'un chromosome X dans les cellules somatiques, probablement l'X tardif, ce qui les différencie nettement de cellules germinales qui elles gardent le schéma XY/XX.

Les déviations du type classique les plus souvent rencontrées sont constituées par les chromosomes sexuels complexes qui existent en plusieurs variantes, mais sont toutes provoquées par une fusion entre l'un des chromosomes sexuels et un autosome. L'X fusionné avec un autosome donne un schéma XY1 Y2/XX (Sorex araneus-SHARMAN-1956), et c'est l'Y qui fusionne avec un autosome, comme chez Mus minutoides (MATTHEY, 1965) les chromosomes sexuels complexes sont de type X1 X2 Y/X1 X2 X1 X2.

Ces déviations de la règle générale du déterminisme sexuel montrent la complexité de ce mécanisme chez les Mammifères et posent la question sur leur rôle dans le processus de spéciation.

Les études sur les chromosomes sexuels des Mammifères ont contribué à une meilleure compréhension du phénomène de l'inactivation du chromosome X dans les cellules somatiques femelles (lyonisation) et, implicitement, la signification et le rôle de la chromatine sexuelle. Aussi, ont-elles permis l'explication de l'évolution différente des chromosomes X et Y1 malgré leur origine commune.

Mais dans ce domaine, restent encore plusieurs problèmes à élucider, notamment le phénomène même de lyonisation, le comportement des chromosomes sexuels dans la méiose mâle, le rôle de l'hétérochromatine et la liaison entre l'activité génétique et l'état hétérochromatique.

En ce qui concerne les anomalies chromosomiques, par rapport à l'énorme quantité de données accumulées chez l'homme, les études chez les Mammifères ne sont pas aussi avancées. Quelques unes des anomalies rencontrées chez l'homme ont été décélées chez les animaux. Parmi les trisomies, quelques cas ont été décrits chez le chien (SHIVE, HARE, PATTERSON, 1965), la souris (CATTANACH, 1964) et chez *Spermophilus beldingi* (NADLER, 1965).

Des translocations ont été signalées chez le chien (SHIVE, HARE, PATTERSON, 1965) et chez le porc (HENRICSON et BACKSTROM, 1964). Le nombre réduit de données sur ce sujet est dû au manque des recherches à grande échelle, à l'absence presque totale des analyses sur la mortalité embryonnaire et à la connaissance insuffisante des paramètres normaux du caryotype, pour la quasi-totalité des espèces de Mammifères.

Quant aux animaux domestiques, les recherches portant sur les espèces importantes du point de vue pratique pourraient être classées en plusieurs catégories, selon leur point d'intérêt.

Les premières investigations faites par les nouvelles techniques ont eu le but de vérifier, voire de corriger, les résultats acquis par les techniques anciennes. Il a fallu une série de travaux, pratiquement pour chaque espèce, portant sur des cellules provenant de différents tissus pour définir et confirmer le nombre chromosomique exact.

Chez les Ruminants et plus spécialement chez les Bovins, à cause des difficultés d'obtention des cultures de lymphocytes, les travaux proposant des méthodes techniques sont particulièrement nombreux.

Après l'établissement du caryotype et la connaissance de la morphologie des chromosomes, chez quelques espèces domestiques ont été proposé différents systèmes de classification du caryotype et établi des idiogrammes. Mais, actuellement, pour aucune espèce d'intérêt pratique on n'a encore un système de classification chromosomique similaire à celui de Denver. Exceptant les espèces dont le caryotype présente des chromosomes de types

variés donc faciles à classer (porc, cheval) le boeuf et les espèces voisines, la chèvre et le mouton qui ont tous ou presque tous leurs chromosomes acrocentriques, se prêtent difficilement à une classification.

Une autre direction de recherche a été l'étude chromosomique des intersexués et spécialement freemartinisme. Ce genre de travaux intéresse surtout le boeuf, mais aussi le porc, le mouton et la chèvre. Dans la plupart des cas d'intersexualité, l'examen chromosomique s'est avéré le seul moyen capable de définir le sexe génétique des animaux affectés et de donner des informations sur les origines possibles du phénomène.

Les hybrides interspécifiques obtenus entre différentes espèces d'animaux domestiques ou bien entre une espèce domestique et une espèce sauvage, ont fourni un objet intéressant d'études cytogénétiques. Les résultats acquis dans ce domaine ont permis d'expliquer certains aspects de l'infertilité des hybrides mâles connue depuis longtemps dans ce genre de croisements.

Le stade actuel des connaissances sur le caryotype de chaque espèce de production sera passé en revue, à l'exclusion du boeuf (*Bos taurus* L.) qui fait l'objet de ce travail.

Une revue bibliographique très complète, publiée récemment (F. HULOT, 1969) fait le point des recherches cytogénétiques chez les Suiformes. Le nombre des chromosomes du porc a fait l'objet d'une polémique qui a duré plus de 40 ans. Elle a été définitivement close en 1961 par le travail de RUDDLE, qui décrivait, dans plusieurs types de cultures cellulaires de porc, le nombre de 38 chromosomes.

Plusieurs auteurs ont proposé différents modèles de classification du caryotype de cette espèce sans toutefois arriver à s'y mettre d'accord. Si l'identification du chromosome Y ne pose pas de problème, étant le plus petit élément du complément, l'X par contre, n'a été identifié avec certitude, que par l'emploi du marquage radioactif (EVANS, 1965).

Les seules anomalies chromosomiques systématiquement étudiées chez cette espèce sont celles qui touchent les intersexués. Parmi les différents types d'intersexués connus, le pseudo-hermaphroditisme mâle semble être le plus fréquent chez le porc. La fréquence particulièrement élevée de l'intersexualité dans cette espèce, qui peut atteindre selon POND et coll., 1961, 20 % de l'effectif dans certains troupeaux, justifierait une étude approfondie.

A l'exception d'une translocation trouvée chez un verrat (HENRICSON et ["]BÄCKSTRÖM["], 1964) avec des implications sur la fertilité, les autres anomalies chromosomiques sont très peu étudiées chez le porc.

Les chromosomes du mouton ont fait, eux aussi, l'objet des résultats contradictoires (HULOT, LAUVERGNE, 1967). C'est en 1959 que MELANDER établit définitivement le nombre de 54 chromosomes. Les travaux ultérieurs sur des cultures cellulaires (NAKANISHI et MIZUTANI, 1959, BORLAND, 1964, Mc FEE et coll., 1965) confirment ce résultat. Le caryotype est constitué de 3 paires de grands métocentriques et 23 paires de chromosomes télocentriques qui peuvent être rangés dans une série décroissante.

Le chromosome Y, le plus petit du complément, est submétacentrique et aisément identifiable. Au contraire, l'X est considéré par certains auteurs comme un des plus grands acrocentriques (Mc FEE, 1965, BRUERE et Mc LAREN, 1967), un des moyens par GERNEKE (1967) ou un des plus petits acrocentriques (BORLAND, 1964). La première hypothèse semble être la plus acceptée.

Les études sur les anomalies chromosomiques chez le mouton sont encore moins nombreuses que chez le porc et concernent aussi l'intersexualité. Le freemartinisme dans cette espèce a été signalé par plusieurs auteurs (BIGGERS et Mc FEELY, 1966, GERNEKE, 1965, JONSSON et GUSTAVSSON, 1969, HULOT et POPESCU, 1969) ainsi que d'autres types d'intersexualité (BRUERE et coll. 1969, HULOT et POPESCU, 1969). Aucun cas d'anomalie d'autosomes n'a été signalé.

Le nombre de 60 chromosomes de la chèvre est connu depuis longtemps (SOKOLOV, 1930, SHIWAGO, 1931, KRALINGER, 1931, MAKINO, 1943) et les travaux récents l'ont confirmé (GIMENEZ-MARTIN et LOPEZ-SAEZ, 1962, EVANS, 1965). Le chromosome Y, comme chez le mouton, est métacentrique et aussi le plus petit du complément. Le chromosome X est difficilement identifiable. Depuis le travail d'EVANS (1965) qui a utilisé le marquage à la thymidine tritiée, l'X est considéré être le troisième acrocentrique par ordre de taille, et en plus, il aurait des petits bras qui le rendraient identifiable sous les préparations de bonne qualité.

Quant aux anomalies chromosomiques de la chèvre, il y a de nombreux travaux qui portent sur les cas d'intersexualité liée à l'absence de cornes, si fréquentes dans cette espèce. La plupart des animaux intersexués, parmi les animaux sans cornes, se sont

avérés à l'aide de l'examen cytogénétique, des femelles génétiques homozygotes pour le gène motte. Mais, à part cette situation qui est le plus souvent rencontrée, il existe encore d'autres types d'intersexués, des individus ayant une mosaïque XX/XV, ou des freemartins, dont la terminologie est assez confuse (HULOT et BASRUR, 1969).

Une autre anomalie chromosomique, la fusion centrique de deux acrocentriques avec la formation d'un métacentrique et un caryotype de 59 chromosomes, a été signalée chez la Chèvre (SOLLERI et coll. 1966, HULOT, 1969). Cette anomalie, plus souvent rencontrée chez le boeuf, a un grand intérêt pratique puisqu'elle entraînerait des troubles de la fertilité (GUSTAVSSON, 1969).

Chez le cheval, le nombre chromosomique décrit par les techniques histologiques variait entre 33 et 66 chromosomes. ROTH-FELS et coll. (1959) établit, en cultures cellulaires, le nombre chromosomique de 64 chromosomes et le caryotype constitué de 28 métacentriques et 36 télacentriques chez la femelle, et 27 métacentriques et 37 télacentriques chez le mâle. SASAKI et MAKINO (1962) confirment ce résultat dans une étude sur des cultures cellulaires provenant de tissus différents. Le chromosome X est un grand submétacentrique et le chromosome Y, un petit acrocentrique.

Les études des intersexués dans cette espèce sont rares et un seul cas étudié du point de vue chromosomique a révélé un caryotype femelle (FRANZ et WIDMAIER, 1969). PODLIACHOUK et VAN DE PLASSCHE (1968) ont trouvé une incidence élevée des anostomoses vasculaires placentaires chez les jumeaux mais, les femelles nées jumelles des mâles présentaient des organes génitaux normaux. Un cas d'aneuploïdie a été décrit chez un mâle infertile (PAYNE et coll. 1968).

II - MATERIEL ET METHODES -

A. MATERIEL.

Les animaux étudiés dans ce travail appartenaient à plusieurs races françaises et roumaines.

Pour les études sur les chromosomes mitotiques, le caryotype normal et l'idiogramme standard, nous avons utilisé des cultures cellulaires provenant des animaux de race Brune de Roumanie, ainsi que des animaux Charolais et Frisons.

L'étude des chromosomes méiotiques porte sur plusieurs taureaux de race Frisonne âgés de 2 mois 1/2 à 2 ans. Les animaux étaient phénotypiquement normaux et ceux qui étaient adultes avaient une fertilité normale.

Les hybrides Bos grunniens x Bos taurus ont été obtenus dans une station expérimentale appartenant à L'Institut de Recherches Zootechniques de BUCAREST. Ils sont issus d'un croisement entre un mâle Yak et des femelles de race Brune. L'évolution du poids et les indices sanguins ont été déterminés sur 24 hybrides (11 ♂♂ et 13 ♀♀) et les études cytogénétiques ont porté sur 2 ♀♀ et un mâle hybride.

Pour les recherches concernant les chromosomes des bovins charolais normaux et culard nous avons disposé de 3 animaux normaux, 3 animaux culards et deux animaux charolais issus d'une mère culard et d'un père normal. Tous ces animaux se trouvaient dans le domaine de la Minière, appartenant au C.N.R.Z. de JOUY-en-

JOSAS.

Des données supplémentaires sur les animaux étudiés seront présentées dans les chapitres intéressés.

B. METHODES.

Les nombreuses techniques cytogénétiques utilisées aujourd'hui, bien qu'elles varient d'un laboratoire à l'autre, sont toutes fondées sur les mêmes principes:

- l'utilisation d'une culture cellulaire comme source de cellules en division.
- un blocage de la division à l'aide de la colchicine pour obtenir le plus grand nombre de cellules en métaphase.
- le traitement hypotonique qui disperse les chromosomes.

Dans ce travail nous avons utilisé plusieurs techniques ayant comme source de cellules différents tissus : le sang, la peau, la moelle osseuse. Quelle que soit la technique utilisée, il est indispensable de respecter certaines mesures de stérilité, d'autant plus dans le cas de cultures cellulaires bovines, dont le prélèvement se fait toujours dans des conditions difficiles.

1. Cultures de leucocytes.

La méthode des cultures de leucocytes est basée sur la capacité de "transformation" du lymphocyte sous l'influence de la phytohéماغglutinine. Si cette méthode donne toujours de bons résultats chez l'homme, chez les bovins se pose un problème particulier à cause de la vitesse extrêmement lente de sédimentation des hématies (0,4 mm/heure chez le boeuf par rapport à 8 mm/heure

chez l'homme) ce qui rend très difficile l'isolement des leucocytes. La phytohémagglutinine qui est capable d'accélérer la sédimentation des hématies chez un grand nombre d'espèces, sur le sang de bovin n'a aucun effet.

En raison de ces difficultés certains auteurs ont préconisé l'emploi de différentes substances qui favorisent la séparation des leucocytes, telles que le fibrinogène (HIRSCHHORN) le dextran (NICHOLS et coll., 1962) ou le sérum de veau suivi d'une centrifugation à faible vitesse (BRUYERE, 1966) ou bien, l'emploi d'une microtechnique à partir de sang entier (BASRUR et GILMAN, 1964 ; BRUYERE et coll., 1965, EVANS, 1965, BRUYERE, 1966, FEDRIGO et RUGIATI, 1967, KOULISCHER, 1967, POPESCU, 1968).

Nous avons utilisé pour ce travail la culture de leucocytes et la technique de microculture. En raison des conditions spéciales de prélèvement du sang des bovins, du laps de temps souvent long, nécessaire pour le transport au laboratoire et peut être à cause de certaines particularités physiologiques de quelques uns des animaux, les réussites étaient moins régulières que chez les humains.

a) La culture de leucocytes.

On prélève 10 à 20 ml de sang périphérique dans un tube stérile contenant de l'héparine, à raison de 1.000 U.I. par ml de sang. Le sang est centrifugé 20 minutes à 1.000 tours/minute. A l'aide d'une pipette Pasteur on enlève le plasma contenant les leucocytes, inclusivement le culot blanc se trouvant sur la masse des hématies ("buffy coat").

Un comptage des leucocytes est nécessaire pour la mise en culture dans une concentration optimale. Le plasma est ensuite distribué dans des tubes de culture. On ajoute dans chaque tube une quantité de milieu telle qu'on obtienne une concentration de 1 200 à 1 500 cellules par ml. Le milieu de culture, T.C. 199 ou N.C. T.C., doit contenir 5 % de sérum de veau inactivé et des antibiotiques. Dans chaque tube on ajoute 0,2 ml de phytohémagglutinine M ou P. Les cultures sont placées à l'étuve à 37° C. 68 heures après la mise en culture, on ajoute dans chaque tube une solution 0,4 % de colchicine à raison de 0,1 ml de milieu. Après une nouvelle incubation de 3 heures, les tubes sont centrifugés 10 minutes à 800 tours. Le surnageant est rejeté et remplacé par 5 ml d'une solution 0,85 % de citrate de Na. préalablement chauffée à 37° C. Les tubes sont maintenus 12' à 37° C., de nouveau centrifugés et le liquide surnageant rejeté. Les cellules sont remises en suspension dans le peu de liquide qui reste dans le tube et ensuite on laisse couler sur le long de la paroi du tube, quelques gouttes de fixateur (mélange alcool absolu - acide acétique 3 : 1). Les cellules sont soigneusement mises en suspension dans le fixateur et la quantité de fixateur complétée jusqu'à 5 ml. Les tubes sont placés à + 4° C pour 30 minutes. Le fixateur est changé deux fois et après la dernière centrifugation on laisse très peu de fixateur dans les tubes. Le culot cellulaire est bien homogénéisé à l'aide d'une pipette Pasteur. On laisse tomber une goutte de suspension cellulaire sur une lame propre, refroidie préalablement et couverte d'un film d'eau, et on sèche à la flamme. Après une hydrolyse acide (7,5 minutes à 62° C dans une solution de H Cl. N.) les lames sont colorées au Giemsa, séchées à l'air libre et montées au baume de Canada.

b) La micro-technique de culture de sang entier.

Cette technique mise au point par de GROUCHY et coll., 1964, pour des recherches de cytogénétique chez l'homme, a subi plusieurs modifications et a été adoptée par différents auteurs, à l'étude chez les mammifères et particulièrement chez les bovins. Etablie surtout pour les nourrissons, afin d'éviter le prélèvement d'une grande quantité de sang, elle est parfaitement adaptable chez les bovins puisqu'elle ne nécessite pas une séparation des leucocytes. La culture se fait à partir d'une petite quantité de sang entier qui contient suffisamment de lymphocytes pour obtenir un nombre convenable de mitoses.

Dans une seringue héparinée on prélève 1 à 2 ml de sang qui est distribué à raison de 10 gouttes par tube de culture, contenant :

- Milieu T.C. 199 15 ml
- Sérum foetal bovin 4 ml
- Phytohémagglutinine M 0,1 ml
- Phytohémagglutinine P 0,1 ml
- Antibiotiques.

Ensuite, le traitement est exactement le même que pour les cultures de leucocytes. Les hématies présentes dans le milieu ne semblent pas empêcher la pousse des lymphocytes et elles sont détruites au moment de la fixation.

Souvent, pour des raisons de compatibilité, le sérum foetal bien qu'il ne contienne pas d'anticorps doit-être remplacé par le sérum autologue. Dans ce but, on prélève en plus une

quantité plus grande de sang (50 ml) dans un flacon **sans** héparine, et on le centrifuge 30 minutes à 5.000 tours pour obtenir le sérum.

Utilisant cette technique nous avons eu des résultats satisfaisants chez les bovins et le mouton (POPESCU, 1968).

2. Cultures de fibroblastes.

Pour une analyse courante de caryotype la technique des cultures de leucocytes est suffisante. Mais, parfois, pour le décelage d'une faible mosaïque ou bien, pour l'étude plus approfondie des différents stades de la division, autres que la métaphase, il est nécessaire de recourir à la méthode de culture des fibroblastes. Cette méthode est basée sur le principe que n'importe quel tissu prélevé stérilement sur un animal vivant, est capable de produire une prolifération cellulaire "in vitro".

Il existe principalement deux méthodes d'obtenir une prolifération cellulaire : soit en transférant le fragment de tissu entier dans un milieu de culture (technique de l'explant) soit par la tripsination du fragment afin d'avoir une suspension cellulaire qui sera ensuite mise en culture.

Pour la technique de l'explant, deux méthodes sont le plus souvent utilisées : la méthode des cultures en flacons (de GROUCHY et ROUBIN, 1965) et la méthode de culture dans des tubes à lamelles (LEJEUNE et coll., 1960).

a) La méthode de culture des fibroblastes en flacon (selon
de GROUCHY et ROUBIN, 1965 et de GROUCHY et coll. 1970).

On prélève stérilement un fragment de peau ou d'aponévrose et on le découpe à l'aide de deux bistouris, en petits fragments ou explants de 1 mm de côté. On dispose dans un flacon à fond plat dix à quinze explants et on les couvre d'une feuille de cellophane perforée qui a pour but de fixer les explants sur la paroi du flacon et de permettre la pousse. On introduit dans chaque flacon 5 ml de milieu de culture préparé selon la recette suivante :

Solution de Hanks	5 parties
Sérum de veau	5 parties
Extrait embryonnaire de poulet	2 parties
Antibiotiques.	

Les flacons sont placés à l'étuve à 37° C et la couleur du milieu surveillée chaque jour. Lorsque la couleur vire vers l'acide, le milieu est renouvelé. Après 5 à 6 jours les explants forment des couronnes de fibroblastes et lorsqu'elles ont atteint une taille suffisante on retire les explants. La prolifération continue et après quelques jours on obtient une couche cellulaire. On décolle les cellules à l'aide d'une solution de trypsine 2,5 % et les repique dans un flacon nouveau.

Au bout de 4 à 5 jours ce flacon sera repiqué de nouveau dans deux ou trois flacons pour entretenir la culture et pour avoir une quantité de cellules disponible pour l'étude chromosomique. 24 heures après le dernier repiquage on ajoute 1 ml de colchicine à 0,4 mg par ml au flacon destiné à l'étude chromosomique et l'on

place à l'étuve pour 4 heures. Ensuite, les cellules sont trypsinées, centrifugées et le milieu remplacé par une solution hypotonique (10 ml H₂O et deux gouttes de sérum de veau). Après un séjour de 20 minutes à la température du laboratoire et une nouvelle centrifugation, les cellules remises en suspension, sont fixées dans 4 ml de mélange alcool absolu - acide acétique 3 : 1. On remplace le fixateur deux ou trois fois et après on fait les préparations selon la méthode utilisée pour les cultures de leucocytes. Les lames sont hydrolysées, séchées et colorées au Giemsa.

La méthode des cultures dans des tubes à lamelles est basée sur le même principe et comprend, à quelques exceptions près, les mêmes opérations. La différence principale est que les cellules, au lieu de pousser sur la paroi d'un flacon, poussent sur une lamelle.

Durant toutes les opérations, les cellules restent collées sur cette lamelle et les risques d'avoir des artefacts dûs aux manipulations techniques sont considérablement diminués.

Nous avons utilisé sur les bovins la méthode des flacons et la méthode des tubes à lamelles ainsi qu'une combinaison entre ces deux méthodes, c'est-à-dire qu'après passages dans des flacons, les cellules ont été repiquées dans les tubes à lamelles et traitées ensuite selon le procédé décrit. Cette méthode nous a permis d'obtenir de nombreuses cellules se trouvant à tous les stades de la division, sans employer la colchicine, évitant donc les modifications provoquées par cette substance sur la morphologie des chromosomes.

Nous avons aussi utilisé la méthode de trypsination d'un organe (la technique recommandée par l'Institut Pasteur) et la culture des cellules ainsi recueillies dans des flacons ou des tubes à lamelles. Les meilleurs résultats ont été obtenus par la trypsination d'un fragment de la zone corticale d'un rein de veau. En général, nous avons constaté une prolifération cellulaire abondante et rapide dans le cas des cellules provenant d'un animal jeune (2 à 4 mois) et le contraire s'il s'agissait d'un animal adulte.

3. Etude de la moelle osseuse.

Il existe plusieurs techniques pour l'étude des chromosomes sur la moelle osseuse qui exigent une culture d'une durée plus ou moins longue (FORD et coll., 1958, FRACCARO et coll., 1960 HIRSCHHORN et COOPER, 1961)

Nous avons utilisé chez les bovins la technique la plus simple qui réduit à 2 ou 3 heures le délai entre le prélèvement de la moelle osseuse et la fixation (TJIO et WHANG, 1962).

On prélève, à l'aide d'une seringue héparinée, 1 ml de moelle osseuse par ponction iliaque sur l'animal vivant ou tout de suite après l'abattage. Dans un flacon contenant du milieu de culture et de la cholchinie, la moelle osseuse prélevée est incubée à 37° C pendant 2 heures. Après une centrifugation de 10 minutes à 800 tours, le surnageant est rejeté et remplacé par une solution 0,6 % de citrate de Na. 30 minutes après, on centrifuge de nouveau et on remplace la solution hypotonique par le fixateur (alcool absolu - acide acétique 3 : 1). Le fixateur est changé 2 ou 3 fois et ensuite les lames sont préparées selon le procédé utilisé pour les cultures de sang.

4. L'étude de la méiose.

Pour l'étude des chromosomes méiotiques du taureau nous avons utilisé la technique d'EVANS et coll., 1964, légèrement modifiée.

Un fragment de testicule est placé dans une solution hypotonique de citrate de Na 0,85 % et dilacéré avec des aiguilles et une pince. La suspension cellulaire obtenue est laissée à la température ambiante jusqu'à 30 minutes (la durée de la dilacération comprise). Après une centrifugation de 10 minutes à 800 tours, on enlève la solution hypotonique et la remplace par le fixateur Carnoy. Le fixateur est renouvelé plusieurs fois. Les lames sont préparées suivant la technique utilisée pour les cultures de leucocytes.

III - LES CHROMOSOMES SOMATIQUES DE BOS TAURUS.

Les connaissances sur le nombre chromosomique du boeuf ont suivi les étapes imposées par l'évolution des techniques d'investigation à toutes les recherches caryologiques chez les vertébrés. MATTHEY (1949) distingue deux étapes dans cette évolution : une première, avec des résultats contradictoires et imprécis et la deuxième, déterminée par l'emploi de meilleurs fixateurs, tel le BOUIN-ALLEN, qui ont permis des numérations exactes.

HULOT et LAUVERGNE (1967) dans une revue bibliographique sur les chromosomes des Ruminants, notent l'importance de l'étape suivante dans les recherches chromosomiques, apparue à la suite de l'introduction des nouvelles techniques cytogénétiques. En

effet, bien que le nombre chromosomique du boeuf ait été défini vers les années trente, sa confirmation définitive a été donnée par les travaux utilisant les nouvelles techniques. Nous résumons dans le tableau n° 1 les travaux portant sur les chromosomes normaux du boeuf. Il est nécessaire de remarquer qu'à l'exception des insuffisances des méthodes techniques, les études des chromosomes de cette espèce étaient rendues particulièrement difficiles par leur nombre relativement grand, leur forme fort semblable et par la difficulté d'obtention du matériel adéquat.

- TABLEAU 1 -

EVOLUTION CHRONOLOGIQUE DE L'ETUDE DU NOMBRE CHROMOSOMIQUE CHEZ
LE BOEUF DOMESTIQUE (BOS TAURUS L.)

AUTEURS	DATES	TISSUS	TECHNIQUES	2n	X	Y
VON BARDELEBEN	1892	Testicule	Coupes histologiques	16	?	?
SHOENFELD	1902	Testicule	Coupes histologiques	20 25	?	?
VAN HOOF	1913	Testicule	Coupes histologiques	20 24	?	?
MASUI	1919	Testicule	Coupes histologiques	33	?	?
WODSEDALEK	1920	Testicule	Coupes histologiques	♂37 ♀38	?	?
KRALLINGER	1927 1928 1931	Testicule	Coupes histologiques	60	M	?

AUTEURS	DATES	TISSUS	TECHNIQUES	2n	X	Y
MAKINO	1943 1944	Testicule	Coupes histologiques	60	T	?
MELANDER, KNUDSEN	1953	Testicule	Coupes histologiques Squash	60	M	?
MEUCHTENBERGER, SCHRADER, HUGUES- SCHRADER, GREGORY	1956	Testicule	Squash	60	?	?
POSTIGLIONI-GRIMALDI	1957	Testicule	Squash	60	?	?
MELANDER	1957 1959	Culture de poumon embryonnaire.	Squash	60	M	SM
BATTAGLIA, CENNI	1959	Testicule	Squash	60	?	?
CHIARELLI, DE CARLI, BUZZO	1960	Culture de cellu- les rénales.	Séchage à l'air	60	SM	A
SASAKI, MAKINO	1962	Culture de peau, rein.	Squash	60	SM	SM
CROSSLEY, CLARKE	1962	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	SM
NICHOLS, LEVAN, LAWRENCE	1962	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	SM
BIGGERS, MC FEELY	1963	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	SM
MULBRICH, WEINHOLD, PEIFFER	1963	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	SM
POPESCU, GRANCIU	1965	Cultures de leucocytes	Séchage à l'air	60	SM	SM
KIEFFER, CARTWRIGHT	1967	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	SM
GERNEKE	1967	Moelle osseuse	Séchage à l'air	60	SM	M
SASRUR, MOON	1967	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	SM	M

AUTEURS	DATES	TISSUS	TECHNIQUES	2n	X	Y
KOULISCHER, TIJKENS, MORTELMANS	1967	Cultures de leucocytes.	Séchage à l'air	60	M	SM
WYSOKI, PADEH, VOLCANI	1969	Culture de testicule et épидидyme	Séchage à l'air	60	SM	SM
BHAMBHANI, KUSPIRA	1969	Culture de leucocytes	Séchage à l'air	60	M	M
GUSTAVSSON	1969	Cultures de leucocytes, peau, rein, muscle.	Squash, séchage à l'air	60	SM	SM

1. Le nombre chromosomique.

Il n'existe plus aucun doute sur le nombre total de 60 chromosomes chez le boeuf. Toutefois, plusieurs auteurs observent une certaine variation autour de ce nombre et l'expliquent par des raisons variées. HERSCHLER et coll., 1962, trouvent dans les cultures de leucocytes seulement 66,9 % de cellules à 60 chromosomes. ZARTMAN et FECHHEIMER, 1967, dans une étude portant sur un grand nombre d'animaux appartenant à des lignées consanguines, trouvent un taux important de cellules périдiploïdes (16,6 %). En plus, le pourcentage de cellules périдiploïdes semble augmenter proportionnellement avec le degré de consanguinité. Ce phénomène, corroboré par les observations chez les humains sur la transmission héréditaire d'une tendance à la non-disjonction (HAMERTON, 1961, et HAUSCHKA, 1962) font penser aux auteurs que le type d'observations mitotiques serait héréditaire.

KIEFFER et CARTWRIGHT (1967) trouvent sur 319 leucocytes du sang périphérique étudiés, 10 cellules à 61 chromosomes et expliquent leur apparition par les conditions artificielles de culture. BHAMBHANI et KUSPIRA (1969) notent, eux aussi, une variation autour du nombre modal.

Dans les 106 métaphases provenant du sang périphérique de 4 animaux et ayant une très bonne dispersion, on trouve la grande majorité de cellules à 60 chromosomes (83,9 %). (Tableau 2). Il existe toutefois un certain nombre de cellules péricentricales. Si pour les cellules à moins de 60 chromosomes on peut invoquer une perte due aux manipulations techniques, pour celles à 61 chromosomes, une non-disjonction peut être supposée.

- TABLEAU 2 -

LA DISTRIBUTION DU NOMBRE CHROMOSOMIQUE DANS LES CULTURES DE SANG ET CULTURES PRIMAIRES DE BOEUF (Bos taurus L.).

Nombre de Chromosomes	57	58	59	60	61	Cellules poliploïdes	Total
Leucocytes du sang périphérique	4	1	7	89 83,9%	1	4	106
Culture primaire de cellules rénales	0	2	6	145 92,9%	0	3	156

Nous avons fait des comptages sur des cultures primaires de cellules rénales, faites dans des tubes à lamelles (Tableau 2). Dans ce cas, le nombre modal est retrouvé dans un nombre plus grand que dans les leucocytes (92,9 %). Ce résultat peut être considéré comme plus concluant étant donné que les cellules n'ont subi aucun passage et que pendant les manipulations techniques elles sont restées collées sur la lamelle, diminuant ainsi, les risques des pertes aléatoires.

2. La morphologie des chromosomes. Les autosomes.

Les 58 autosomes du boeuf possèdent une morphologie extrêmement semblable, ayant tous le centromère situé dans la région terminale. La question de savoir si le centromère est réellement terminal ou bien subterminal, donc si les chromosomes sont télocentriques (t - chromosome selon la nomenclature de LEVAN, 1965) ou acrocentriques, reste encore à résoudre.

Pour certains auteurs (CROSSLEY et CLARKE, 1962, ULBRICH et coll., 1962, EVANS, 1965, GERNEKE, 1967) ils sont acrocentriques, mais pour d'autres, télocentriques (CHIARELLI et coll., 1960, SASAKI et MAKINO, 1962, NICHOLS et coll., 1962). KIEFFER et CARTWRIGHT, 1967, considèrent tous les autosomes du boeuf comme des acrocentriques mais affirment que dans des préparations de très bonne qualité, des petits bras sont souvent visibles. BHAMBHANI et KUSPIRA, 1969, sans nier cette possibilité affirment n'avoir jamais observé dans leurs préparations de chromosomes possédant des petits bras. GUSTAVSSON, 1969, bien qu'il les considère comme télocentriques note parfois l'existence de petits bras mais leur apparition serait variable d'un animal à l'autre, d'un tissu à l'autre, ou bien, selon la technique utilisée.

Dans nos préparations nous avons souvent observé des autosomes avec de petits bras, parmi les chromosomes de toutes les tailles. Ils sont aussi bien observables dans des cellules traitées à la colchicine que dans des cultures primaires non traitées (Fig. 1). Malgré cette présence, à cause des difficultés d'identification des paires autosomales, nous ne pouvons considérer aucun autosome comme ayant constamment cette particularité.

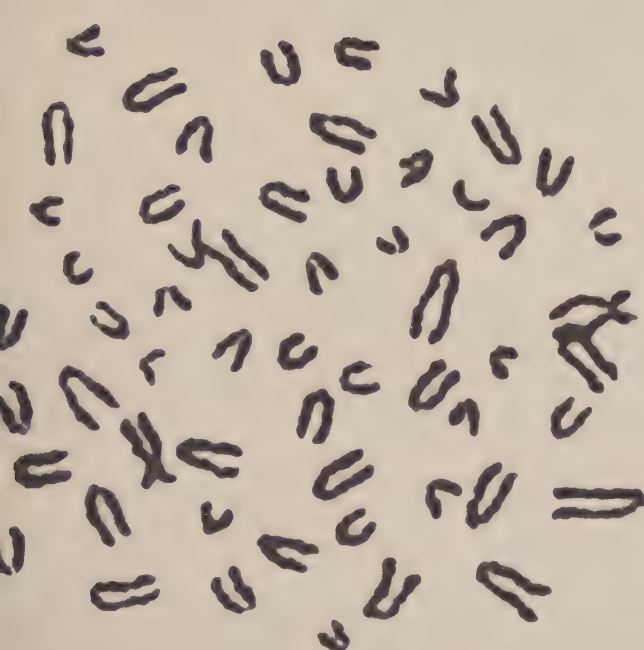
Les chromosomes sexuels.

La morphologie des chromosomes sexuels bovins et plus spécialement la position du centromère, a fait l'objet de contradictions (voir tableau 1). Dans les premiers travaux portant sur les chromosomes bovins leur morphologie était complètement ignorée. Le premier à décrire un hétérosome, le chromosome X, fut KRALLINGER (1927, 1928).

La forme particulière de ces chromosomes par rapport à celle des autosomes est précisée par MELANDER (1957, 1959). La majorité des travaux ultérieurs considèrent les deux chromosomes sexuels comme submétacentriques, sans toutefois donner des mesures précises.

L'indice centromérique calculé sur dix cellules mesurées (tableau n° 3) a une valeur moyenne de 0,34 % pour le chromosome X et de 0,40 pour le chromosome Y, ce qui les classe, tous les deux, parmi les submétacentriques. On remarque que le Y a le centromère plus proche de la position médiane que le X. Nous avons aussi calculé l'index centromérique d'après les données de GUSTAVSSON (1969), et les valeurs obtenues sont comparables aux nôtres : 0,37 pour le chromosome X et 0,43 pour l'Y.

П П Л Л В П П П П П П П



П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П

b

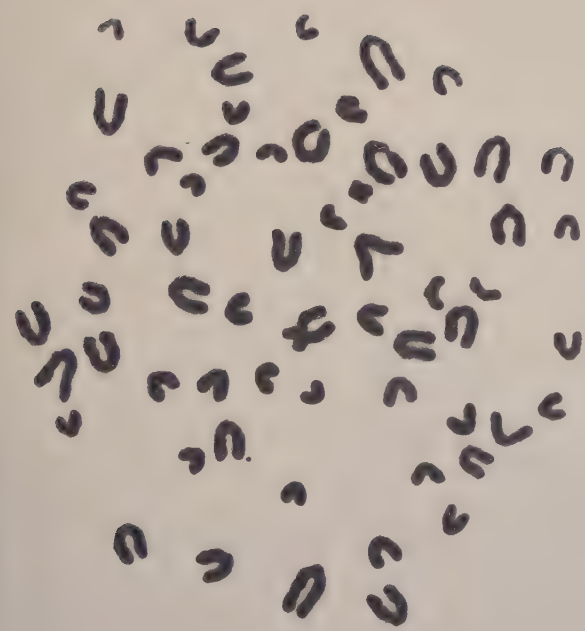
П П П П П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П П

П П П П П П П П П П П П П



d

П П П П П П П П П П П П П П П П

FIG. 1 - Chromosomes métaphasiques et caryotype de *Bos taurus* L.

a. b.-Femelle, c. d. - Mâle. Les chromosomes sexuels sont marqués par une flèche.

3. Le caryotype.

A cause du fait que tous les autosomes du boeuf ont le centromère situé dans la région terminale, leur arrangement dans un caryotype se fait en tenant compte uniquement de la taille. Ainsi ils constituent une série décroissante avec des différences extrêmement petites entre deux paires voisines. Toute classification à l'intérieur de cette série reste arbitraire. L'absence des constriction secondaires, remarquée par plusieurs auteurs (BATTAGLIA et CENNI, 1959, MELANDER, 1959, POPESCU, 1968) ou de toute autre différence morphologique, empêche davantage leur classification. Généralement les caryotypes de cette espèce sont présentés sous la forme d'une série décroissante, divisée, pour des raisons de commodité, en cinq ou six rangées (Fig. 1 - b. d.).

4. L'idiogramme.

Il existe plusieurs idiogrammes du boeuf, basés sur des mesures d'un nombre plus ou moins grand de cellules (voir le tableau 4).

Nous avons d'abord établi un idiogramme du boeuf basé sur 10 cellules (POPESCU, 1969). Les cellules mesurées ont été choisies parmi 106 métaphases provenant de 4 animaux de race Brune (2 ♀♀ et 2 ♂♂). Les mesures ont été pratiquées sur des photographies, à l'aide d'un compas et d'une échelle micrométrique à une précision de 0,1 mm. Nous avons mesuré séparément chaque

chromatide et calculé la moyenne pour chaque chromosome du complément diploïde. Ensuite, nous avons calculé la moyenne entre les deux chromosomes de chaque paire pour obtenir les valeurs du complément haploïde. Pour éliminer les différences existant d'une cellule à l'autre, dûes au degré variable de spiralisation, l'idiogramme est basé sur la longueur relative de chaque chromosome, exprimée en pour mille de la longueur totale du complément haploïde. La longueur totale a été calculée selon les formules :

$$L.T. = \frac{58 A + X}{2} \quad \text{chez les } \text{oo}$$

$$\text{et} \quad L.T. = \frac{58 A}{2} + \frac{X_1 + X_2}{2} \quad \text{chez les } \text{oo} \text{ et } \text{♂}$$

- TABLEAU 3 -

LES MOYENNES DES LONGUEURS RELATIVES ET L'INDEX CENTROMERIQUE
DES CHROMOSOMES SEXUELS DU BOEUF

SEXE	♂			♀		
	$\bar{X}$ (moyenne)	$E_{\bar{X}}$ (erreur standard)	I.C. index centromé- rique	$\bar{X}$ (moyenne)	$E_{\bar{X}}$ (erreur standard)	Index centromé- rique
chromosomes sexuels						
X_1	56,07	0,70	0,34	57,62	2,42	0,32
X_2	-	-	-	51,03	0,77	0,35
Y	21,79	0,64	0,40	-	-	-

TROIS IDIOGRAMMES DU BOEUF DOMESTIQUE (BOS TAURUS L.)

AUTEURS	BASRUR & MOON 1967	BHAMBHANI & KUSPIRA 1969	GUSTAVSSON 1969				POPESCU 1969			
			5 cellules ♂♂		5 cellules ♀♀		5 cell. ♂♂		5 cell. ♀♀	
			Moyenne	Erreur	Moyenne	Erreur	Moyenne	Erreur	Moyenne	Erreur
Rang de la paire	5 cell. ♂♂ (X̄)	1 cell. ♂ 1 cell. ♀								
1	5,8	5,7	5,5	1,26	53,86	1,01	52,44	1,01	54,69	0,971
2	5,0	5,5	5,2	0,70	49,46	0,89	49,59	0,89	47,92	0,339
3	4,9	5,1	4,9	0,61	45,23	0,92	45,86	0,92	45,75	0,299
4	4,6	4,8	4,5	0,44	43,50	0,27	44,10	0,27	43,56	0,441
5	4,5	4,5	4,4	0,38	42,35	0,06	42,66	0,06	42,52	0,441
6	4,4	4,5	4,4	0,39	41,20	0,51	41,23	0,51	41,24	0,494
7	4,3	4,3	4,2	0,62	40,20	0,74	40,36	0,74	40,52	0,393
8	4,2	4,1	4,1	0,54	39,48	0,55	39,62	0,55	39,91	0,364
9	3,9	4,1	4,0	0,57	38,12	0,89	39,04	0,89	38,70	0,334
10	3,7	3,8	3,8	0,66	36,97	0,43	37,64	0,43	37,32	0,388
11	3,6	3,8	3,6	0,70	34,89	0,13	35,99	0,13	35,76	0,339
12	3,5	3,4	3,6	0,59	32,88	0,61	33,95	0,61	34,26	0,289
13	3,5	3,4	3,6	0,58	31,66	0,46	32,71	0,46	33,01	0,289
14	3,3	3,1	3,3	0,63	30,87	0,54	31,95	0,54	31,63	0,232
15	3,2	3,1	3,0	0,24	30,58	0,52	30,73	0,52	30,60	0,248
16	2,9	2,9	3,0	0,18	29,22	0,32	29,79	0,32	29,74	0,312
17	2,9	2,9	3,0	0,26	28,88	0,16	28,88	0,16	29,01	0,325
18	2,8	2,9	2,7	0,29	28,68	0,17	28,09	0,17	28,43	0,266
19	2,6	2,8	2,7	0,43	28,48	0,23	27,50	0,23	27,94	0,256

- TABLEAU 4 -
(suite)

AUTEURS	BASRUR & MOON 1967	BHAMBHANI & KUSPIRA 1969		GUSTAVSSON 1969				POPESCU 1969			
		1 cell. ♂	1 cell. ♀	5 cellules ♂		5 cellules ♀		5 cell. ♂	5 cell. ♀	♂+♀	Erreur
Rang de la paire	Moyenne			Moyenne	Erreur	Moyenne	Erreur	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Standard
20	2,6	2,6	2,6	27,57	0,33	26,91	0,23	27,19	27,01	27,10	0,299
21	2,5	2,4	2,5	26,71	0,44	25,81	0,33	26,19	26,18	26,19	0,258
22	2,4	2,4	2,2	26,71	0,89	25,68	0,84	25,38	25,37	25,37	0,266
23	2,3	2,4	2,2	25,56	0,43	24,83	0,42	24,22	24,69	24,45	0,401
24	2,3	2,2	2,2	24,77	0,57	24,07	0,38	23,20	23,72	23,46	0,304
25	2,0	2,2	2,2	23,76	0,58	23,32	0,76	22,10	22,90	22,50	0,299
26	1,9	2,1	1,9	23,12	0,52	22,08	0,36	20,98	22,27	21,62	0,472
27	1,9	2,1	1,9	22,47	0,51	21,15	0,45	20,29	21,19	20,74	0,465
28	1,8	1,9	1,9	20,22	0,44	20,10	0,15	18,76	19,67	19,22	0,553
29	1,8	1,7	1,6	18,09	0,36	18,82	0,53	16,64	17,16	16,90	0,312
Chrom. sexuels	5,6	4,8	5,2	53,67	0,68	-	-	56,07	57,62	-	-
	1,8	2,1	5,2	24,59	0,71	-	-	21,79	51,03	-	-

Nous avons calculé les moyennes des longueurs relatives de chaque chromosome du complément haploïde de chaque sexe séparément, puis les moyennes pour les deux sexes, ensemble. Pour chaque chromosome, nous avons calculé la variance, la déviation standard et l'erreur standard de la moyenne.

Les valeurs de l'erreur standard obtenues indiquent des variances homogènes pour la plupart des chromosomes, à l'exception du chromosome 1. Une variation plus grande du chromosome 1 est aussi observable dans l'idiogramme du mouton (BRUERE et MC LAREN, 1962) de la souris (LEVAN et coll., 1962), du Yak et de ses hybrides avec le boeuf domestique (POPESCU, 1969).

Nous avons ensuite dressé un idiogramme sur 20 cellules provenant de deux animaux charolais (1 ♂ et 1 ♀). Dans l'établissement de cet idiogramme nous avons suivi les mêmes règles que pour le premier, mais les résultats représentent les moyennes pour les deux sexes, considérés ensemble. (Tableau 5). Les valeurs obtenues sont très proches de celles contenues dans l'idiogramme basé sur 10 cellules : 24 chromosomes sur les 29 du complément haploïde ont pratiquement les mêmes valeurs dans les deux idiogrammes puisque les différences sont inférieures à 1 %. Cette ressemblance indique que malgré les particularités des chromosomes bovins et les erreurs dues à la méthode de mesure utilisée, un idiogramme de référence pour cette espèce serait réalisable. En plus, elle prouve qu'entre les deux races, il n'existe pas de différences marquées, fait d'ailleurs attendu.

- TABLEAU 5 -

VALEURS MOYENNES DES LONGUEURS RELATIVES (%) DES CHROMOSOMES
HAPLOIDES CHEZ BOS TAURUS
 (20 CELLULES)

RANG DU CHROMOSOME	$\bar{X} \begin{smallmatrix} \nearrow \\ \circ \circ \\ + \end{smallmatrix}$	$E_{\bar{X}}$
1	54,00	0,67
2	48,10	0,38
3	45,77	0,32
4	43,92	0,27
5	42,74	0,26
6	41,63	0,28
7	40,65	0,25
8	39,63	0,22
9	38,35	0,27
10	37,05	0,23
11	35,85	0,25
12	34,32	0,21
13	33,07	0,18
14	31,90	0,19
15	30,88	0,17
16	30,02	0,17
17	29,26	0,20
18	28,46	0,18
19	27,71	0,18
20	27,00	0,18
21	26,23	0,19
22	25,41	0,19
23	24,61	0,24
24	23,77	0,23
25	22,79	0,21
26	21,77	0,28
27	20,90	0,32
28	19,61	0,42
29	17,46	0,40
X	55,39	0,81
Y	22,43	0,47

$\bar{X}$ = Moyenne des longueurs relatives.

$E_{\bar{X}}$ = Erreur standard de la moyenne.

Une comparaison entre les deux idiogrammes et ceux publiés précédemment par différents auteurs (Tableau 4) relève des grandes similitudes avec les données de GUSTAVSSON (1969).

On remarque dans tous les idiogrammes établis chez le boeuf des différences très petites entre deux chromosomes successifs, surtout dans les cas où les mesures ont été faites sur un nombre réduit de cellules. (Tableau 4). Le seul chromosome qui présente, en longueur relative, des dimensions nettement supérieures au suivant est le chromosome 1.

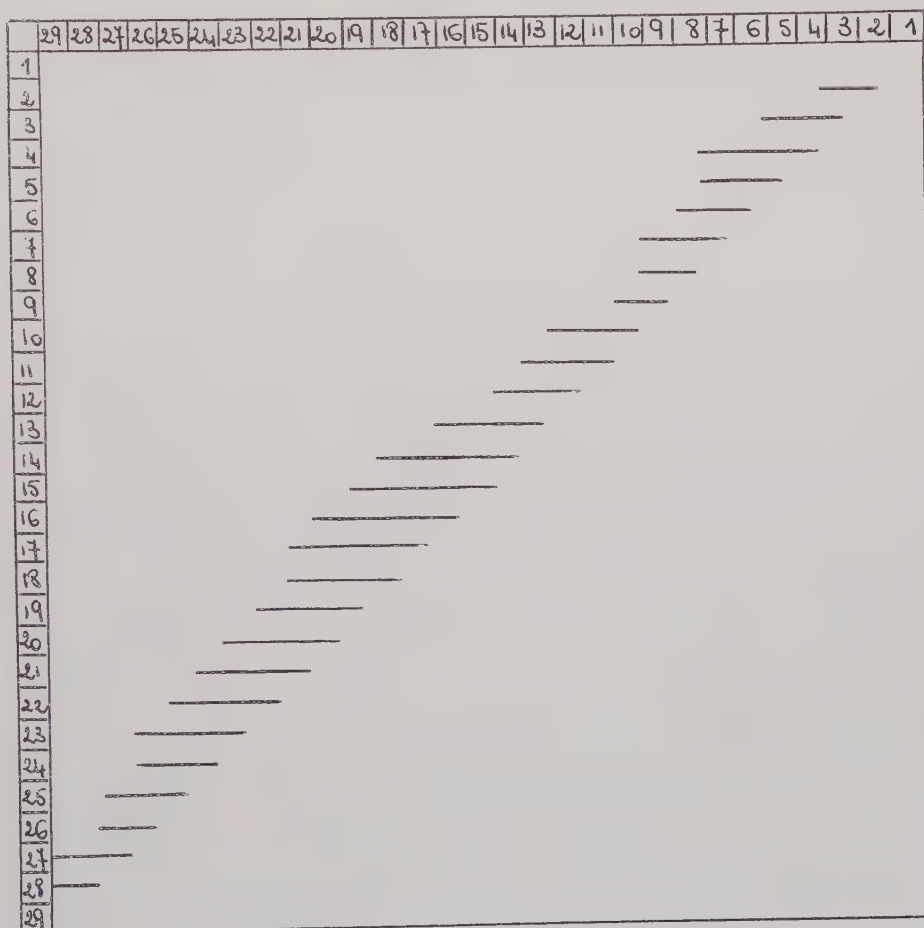
Pour mieux connaître les différences existant entre les paires successives et les risques de confusion entre deux ou plusieurs paires, nous avons appliqué le test de TUKEY (Tableau 6). Le calcul du W a été fait sur les moyennes des longueurs relatives de chaque chromosome du complément haploïde. On constate, d'après ce test, que le nombre de chromosomes entre lesquels il n'y a pas de différences significatives et qui donc pourraient être confondus, est généralement de 4 ou 5. Ce nombre est plus grand dans les chromosomes de taille moyenne, se trouvant au milieu de la série. Le seul chromosome ayant une longueur significativement différente de tous les autres est le chromosome 1.

Selon leur taille, les chromosomes sexuels du boeuf se placent aux deux extrémités de l'idiogramme. Ainsi, le chromosome X, dans tous les idiogrammes existants chez cette espèce, présente des valeurs proches du chromosome 1 (voir le tableau 4). Le chromosome Y a une taille comparable au chromosome 25, dans les deux idiogrammes. L'erreur standard de la moyenne du chromosome Y a une valeur plus grande que celle des autosomes. On a déjà

remarqué chez l'homme et chez la souris (LEVAN et coll., 1962) une tendance du chromosome Y vers une variabilité accentuée de sa taille, ce qui pourrait être expliqué par sa situation particulière pendant le processus de la méiose.

- TABLEAU 6 -

TEST DE TUKEY



Test de TUKEY appliqué aux moyennes des longueurs relatives des chromosomes haploïdes de *Bos taurus*. $W_{\alpha=0,01} = 4,14$

- Deux moyennes unies par le même trait ne sont pas significativement différentes.
- S'il n'y a pas de trait entre deux moyennes, elles sont significativement différentes.

Le chromosome X présente, lui aussi, une erreur standard plus grande que les autosomes (Tableau 3). Il existe une différence significative ($P = 0,05$) entre les dimensions des deux chromosomes X chez la femelle de *Bos taurus*. Ce phénomène pourrait exprimer une manifestation de l'état hétéropycnotique qui touche l'un des chromosomes X de la femelle.

L'établissement d'un idiogramme de référence chez le boeuf, basé sur un nombre important de cellules, suivant le modèle de DENVER pour les humains, serait nécessaire, en tenant compte des difficultés de classement des chromosomes bovins. Un tel idiogramme, adopté par tous les chercheurs s'intéressant à cette espèce, constituerait un moyen utile pour le dépistage de certaines anomalies chromosomiques, telles les translocations et les délétions. Il pourrait aussi fournir des éléments précieux dans les études des chromosomes intervenant dans les fusions centriques, phénomène paraît-il, assez répandu dans cette espèce et qui présente une importance pratique considérable en raison des troubles de fertilité qu'il entraîne (GUSTAVSSON, 1969, AMRUD, 1969).

CHAPITRE IV

LES CHROMOSOMES MEIOTIQUES

La première numération correcte des chromosomes méïotiques de *Bos taurus* L. est dûe à KRALLINGER (1931) qui, en utilisant le fixateur BOUIN-ALLEN et la méthode des coupes histologiques, trouve le nombre de 60 chromosomes dans les cellules spermatogoniales. Toutes les recherches antérieures aboutissaient à des résultats contradictoires et ne gardent plus aujourd'hui qu'une valeur historique. Malgré le chiffre exact qu'il obtient pour le nombre des chromosomes, KRALLINGER n'a pu identifier que le chromosome X des bovins ; il supposait l'existence chez cette espèce d'un déterminisme sexuel de type XO/XX. MAKINO (1944), étudiant les chromosomes méïotiques en coupes histologiques, identifie le chromosome Y et donne la première description du bivalent sexuel du boeuf, sans toutefois, pouvoir apporter des détails sur la morphologie des hétérochromosomes.

Les nouvelles techniques acquises dans la cytogénétique humaine, ont été appliquées progressivement dans les études des chromosomes méïotiques des bovidés. MELANDER et KNUDSEN (1953) introduisent la technique de "l'écrasement" (squash.) dans une étude des chromosomes méïotiques et POSTIGLIONI-GRIMALDI (1956) applique pour la première fois chez le boeuf le traitement hypotonique des cellules en division.

Plusieurs auteurs ont traité depuis de l'aspect normal des chromosomes méïotiques du boeuf ; quelques anomalies ont même été décelées.

L'étude des chromosomes méiotiques chez les bovins s'avère importante aussi bien du point de vue théorique que pratique. De nombreuses anomalies chromosomiques peuvent être présentes dans la lignée germinale et toute modification structurale des chromosomes somatiques devrait être vérifiée dans les chromosomes méiotiques, pour la certitude de l'interprétation (C.E. FORD, 1969).

Chez l'homme, les connaissances sur le comportement des chromosomes durant la méïose sont beaucoup plus avancées et un bon nombre d'anomalies de la méïose se sont trouvées liées à des troubles de la fertilité masculine .

En ce qui concerne les animaux domestiques, et plus particulièrement les bovins, les études des aspects normaux et pathologiques sont d'autant plus nécessaires aujourd'hui que par l'insémination artificielle, une anomalie risque d'être transmise à un grand nombre de descendants.

Nous avons entrepris l'étude des chromosomes méiotiques du boeuf, afin de mieux comprendre leur comportement pendant les différentes phases de la méïose et d'établir leurs paramètres normaux pour avoir un étalon indispensable à l'étude des anomalies.

L'étude porte sur 6 taureaux de la race frisonne âgés de 2 mois 1/2 à 2 ans, phénotypiquement normaux et ayant une fertilité normale. Les préparations ont été réalisées à partir de fragments testiculaires prélevés quelques minutes après la mort des animaux, selon la technique d'EVANS et coll. (1964).

1. Les stades préméiotiques.

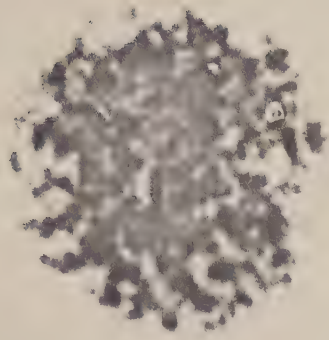
Chez le taureau, comme chez la plupart des Mammifères, on trouve plusieurs types de cellules spermatogoniales. Un premier type, les spermatogonies A, est non différencié, avec très peu de chromatine dispersée dans le noyau, d'où le nom de spermatogonies "poussiéreuses" (CLERMONT, 1966). Les spermatogonies B, au contraire, riches en chromatine, celle-ci ayant la forme de "crounelles" sont appelées "spermatogonies crounelleuses". Un troisième type, les "spermatogonies intermédiaires", selon l'aspect et la quantité de leur chromatine, se situent entre les deux types précédents.

Les spermatogonies A subissent des divisions mitotiques et produisent d'une part, des spermatogonies A "souche" et d'autre part, des spermatogonies intermédiaires. Ces dernières donnent naissance à des spermatogonies B. Celles-ci vont produire toujours par divisions mitotiques, les spermatocytes primaires qui vont subir la méïose. Ce mécanisme assure une réserve de spermatogonies A "souche" et, en même temps, le matériel nécessaire au processus de spermatogenèse.

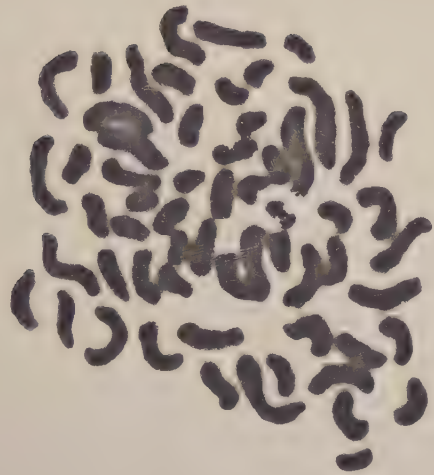
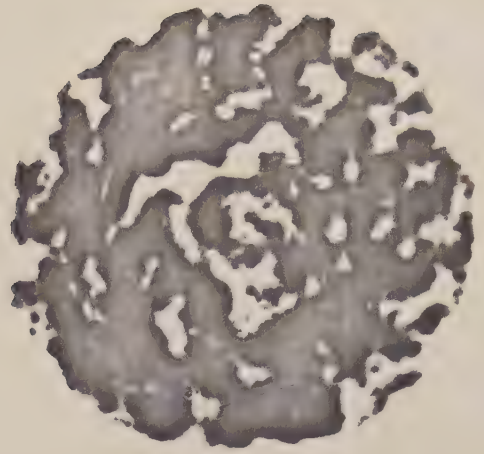
KNUDSEN (1953) est le premier qui a mis en évidence l'existence des spermatogonies B chez le taureau, confirmé depuis par POSTIGLIONI-GRIMALDI (1957) BATTAGLIA et CENNI (1959) et ORTAVANT (1959).

Dans nos préparations, nous avons observé les deux types de spermatogonies, A et B (Fig. 2 a, b,) ainsi que deux types différents de divisions spermatogoniales : des plaques métaphasiques contenant des chromosomes aisément identifiables,

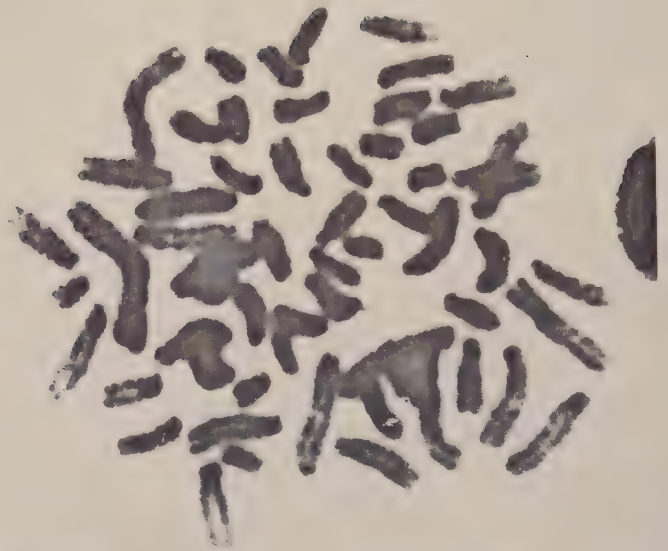
a



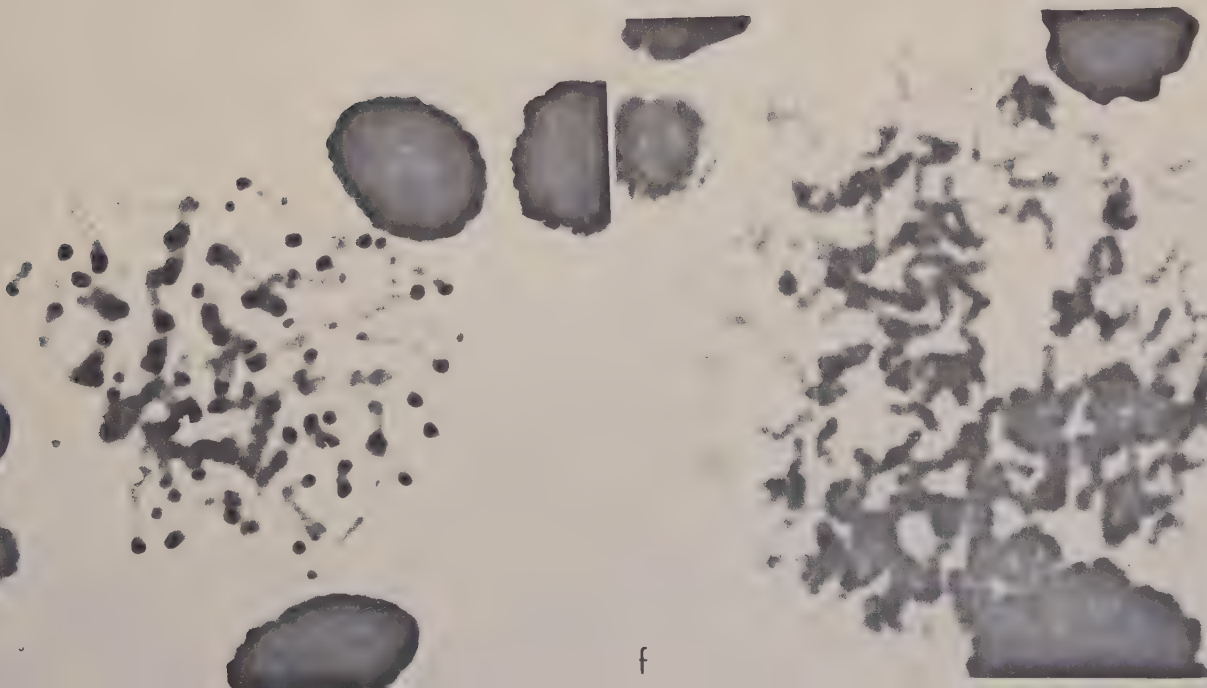
b



d



f



despiralisés, sans structure chromomérique visible (FIG. 2, c.) pourraient être considérées comme des spermatogonies A ; d'autres cellules, avec des chromosomes plus contractés, peuvent être identifiées à des spermatogonies B (FIG. 2, d.). Dans le premier cas, les chromosomes présentent souvent des zones à hétérochromatie positive, situées dans la région du centromère (FIG. 2, e).

Toutefois, nous avons noté la présence de plusieurs images de divisions spermatogoniales, représentant des métaphases avancées et il serait difficile de les attribuer à un certain type de spermatogonies.

Le nombre de chromosomes dans les images des divisions spermatogoniales étudiées a été, dans la plupart des cas, le nombre modal de 60.

Nous avons trouvé un nombre réduit de spermatogonies hypodiploïdes, dû probablement à des fautes techniques. On note toutefois la présence de métaphases spermatogoniales à un nombre hyperdiploïde de chromosomes (Tableau 7) tétraploïdes en majorité ou même avec un degré de polyploïdie plus élevé (FIG. 2, f). Les chromosomes métaphasiques des spermatogonies sont aisément identifiables et peuvent être arrangés en caryotypes. L'unique critère utilisable pour la constitution du caryotype serait, comme pour les chromosomes somatiques bovins, leur taille décroissante.

FIG. 2 - Chromosomes des spermatogonies.-a. Spermatogonie A -
b. Spermatogonie B. - c. Métaphase spermatogoniale A -
d. Métaphase spermatogoniale B.-e. Métaphase spermatogoniale A ; noter l'état hétérochromatique des régions centromériques. - f. Métaphase spermatogoniale polyploïde.

- TABLEAU 7 -

LA FREQUENCE DES SPERMATOGONIES NORMALES ET HYPERDIPLOIDES CHEZ QUATRE TAUREAUX AGES DE 2 1/2 A 18 MOIS.

Exemplaire	Age en mois	Métaphases spermatogoniales à 60 chromosomes	Métaphases spermatogoniales hyperdiploïdes	%
1	2,5	5	-	
2	3	44	2	
3	4	15	2	
4	18	29	3	
TOTAL		93	7	7,5

Chez l'homme, SASAKI et MAKINO (1965) ont remarqué un état hétéropycnotyque du chromosome Y dans les divisions spermatogoniales, infirmé par les études ultérieures de LUCIANI (1970). Dans les divisions spermatogoniales étudiées, nous avons toujours trouvé les chromosomes sexuels dans le même état de coloration que les autosomes.

2. Les stades méiotiques.

a. Les spermatocytes primaires.

Les spermatocytes primaires interphasiques du taureau présentent, contrairement à la majorité des Mammifères, des chromosomes très contractés. Peu avant le début de la prophase

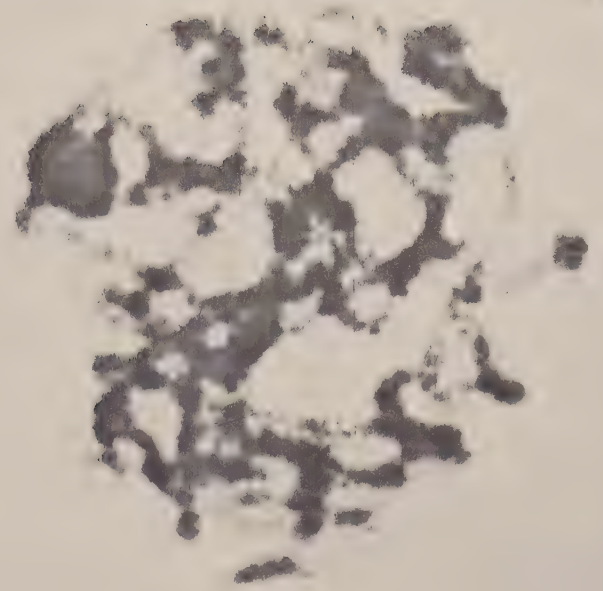
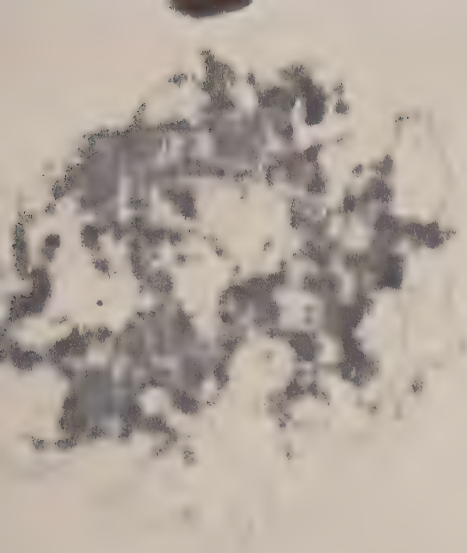
méïotique, les chromatides se relaxent, la spiralisation décroît et les chromosomes prennent l'aspect filiforme leptoténique.

MELANDER et KNUDSEN (1953) et KNUDSEN et BRYNE (1960), utilisant la technique de "squash" et les coupes histologiques, trouvent une disposition "en bouquet" des chromosomes leptoténiques. Cet état de polarisation faciliterait, selon SWANSON (1957) l'appariement des chromosomes homologues, dans le stade suivant. Nous avons rarement observé cette disposition qui pourrait être troublée, dans nos préparations, par l'effet du traitement hypotonique. La plus grande partie des cellules leptoténiques présentaient des chromosomes répandus au hasard, filamenteux, avec des contours flous et une faible affinité pour le colorant (FIG. 3, a).

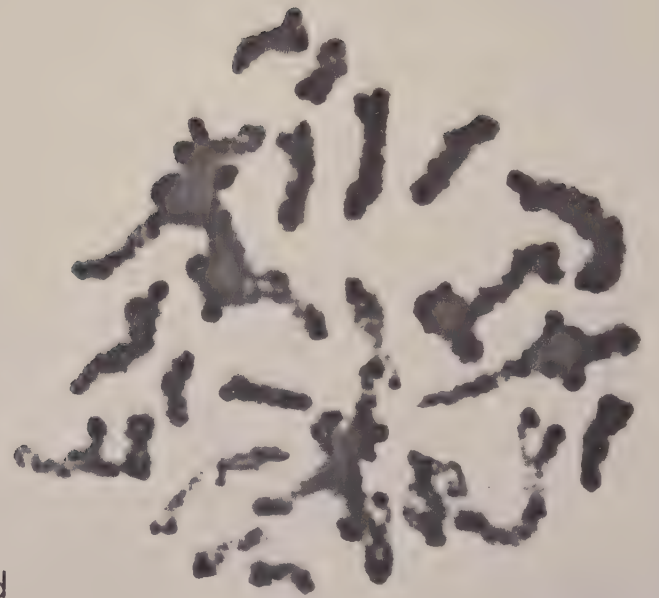
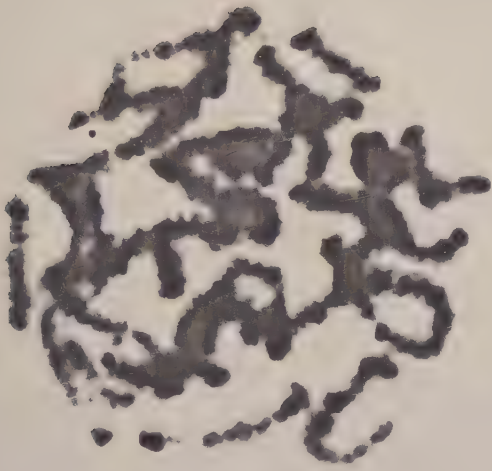
Dès les stades leptoténiques les plus précoces, les chromosomes sexuels ont un caractère hétéropycnotique, se présentent sous la forme d'un corpuscule situé presque toujours à la périphérie du noyau. Ils constituent d'ailleurs les seuls chromosomes identifiables au leptotène.

Au stade zygotène, les chromosomes sont plus contractés, avec des contours plus nets et une colorabilité plus marquée qu'au stade précédent. Le synapsis est accompli et on peut observer, dans certaines cellules, la double structure des bivalents et la disposition juxtaposée des chromomères. Les chromosomes sexuels sont toujours à l'intérieur de la vésicule sexuelle qui garde son caractère hétérochromatique (FIG. 3 b).

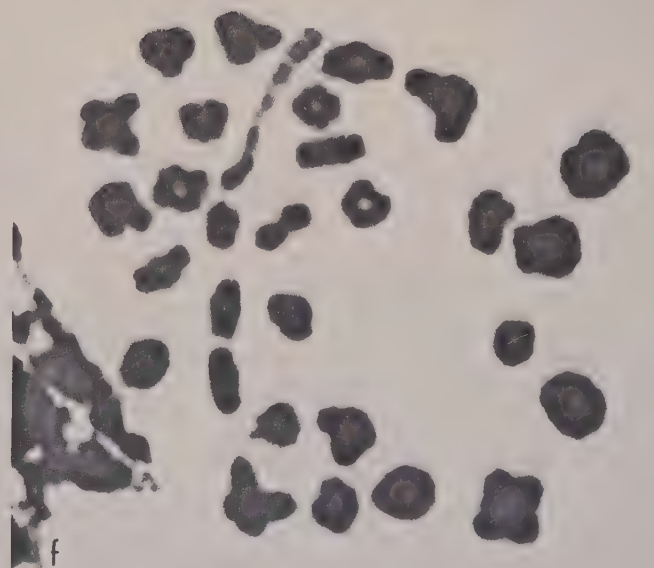
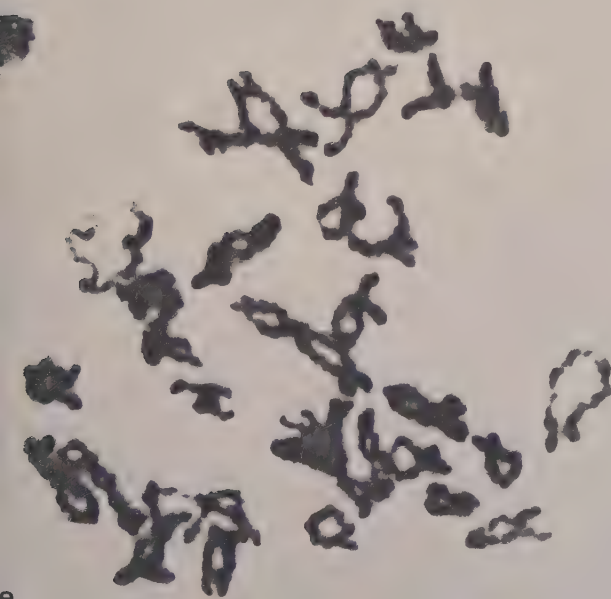
Le stade pachytène semble avoir une durée assez longue vu la fréquence des cellules pachyténiques par rapport aux autres



b



d



f

e

stades de la méiose. Les chromosomes sont complètement appariés et la structure double des bivalents n'est plus visible. Dans les phases précoces les bivalents ont un aspect plumeux avec une zone hétérochromatique dans la région du centromère (FIG. 3, c). Dans une phase plus avancée, les régions centromériques commencent à s'écarter et les centromères deviennent intensément hétérochromatiques (FIG. 3, d). La séparation entre les chromosomes de chaque bivalent avance et marque le passage au diplotène.

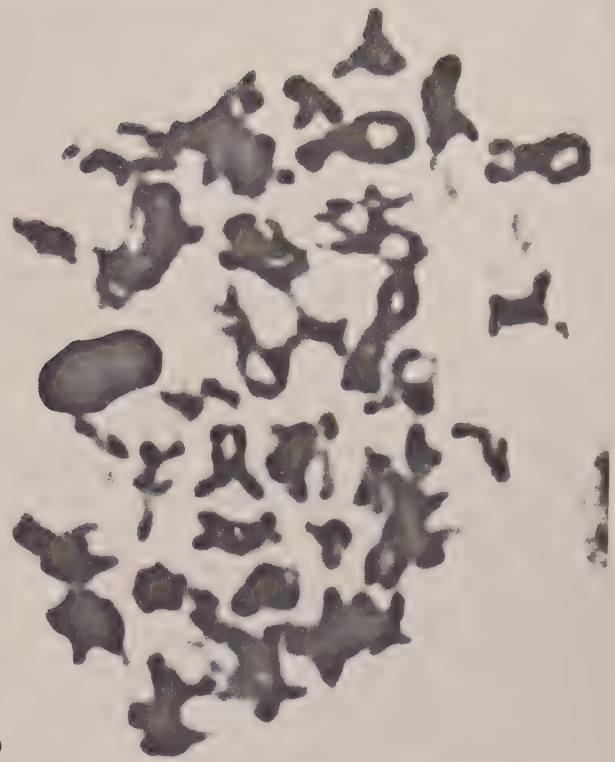
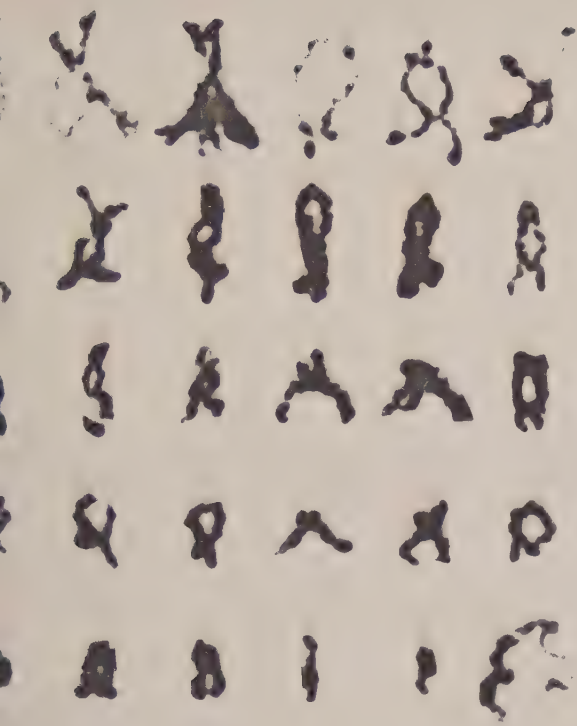
Les cellules pachyténiques précoces ne se prêtent pas à l'obtention des caryotypes mais, dans les phases tardives, nous avons pu cependant dresser les caryotypes de plusieurs cellules. Le nombre des bivalents a toujours été de 30. Parmi une centaine de cellules pachyténiques étudiées, nous n'en avons rencontré qu'une seule aberrante à 2n bivalents.

Pendant le pachytène précoce la vésicule sexuelle est visible mais elle disparaît à la fin de ce stade.

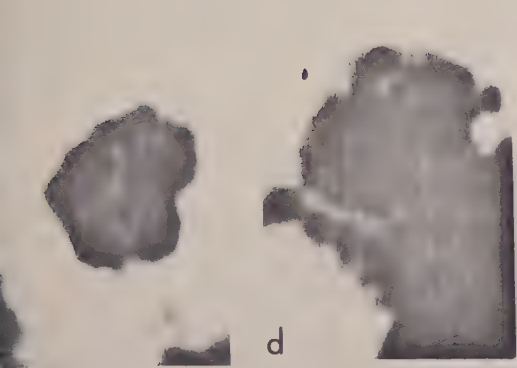
Dans le stade diplotène les chromosomes homologues de chaque bivalent sont écartés et restent attachés uniquement par les chiasmas (FIG. 3, e). Le bivalent sexuel est devenu visible grâce à la disparition de la vésicule sexuelle. Son caractère hétérochromatique et sa liaison typique bout-à-bout le rendent parfaitement reconnaissable.

FIG. 3 - Stades méiotiques - a. Leptotène. - b. Zygotène. - c. Pachytène. - d. Pachytène tardif. Noter la présence de la vésicule sexuelle et son état hétérochromatique. - e. Diplotène. - f. Diacinèse. Le bivalent sexuel est indiqué par une flèche. Noter son état hétérochromatique.

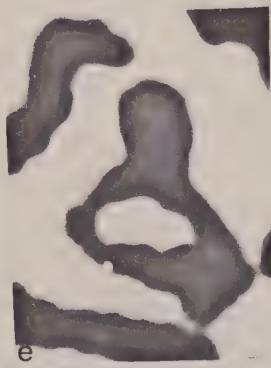
FIG 4



b



d



e



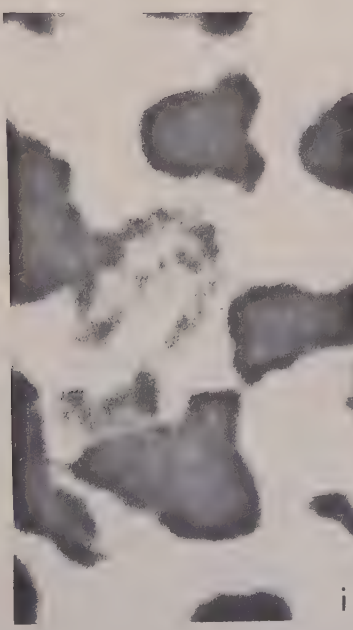
f



g



h



i



i

FIG. 4 - a. Caryotype d'une cellule au diplotène. - b. Cellule diploténique à 2n bivalents. - c. La vésicule sexuelle dans un stade précoce - d. Un stade plus avancé ; noter à l'intérieur une structure rappelant les chromatides. - e. f. Le bivalent sexuel dans un moment juste après la disparition de la vésicule sexuelle. - g. Le bivalent sexuel dans une cellule diploténique. - h. i. Le bivalent sexuel à la diacinèse. Noter l'association bout-à-bout et l'hétérochromatie des chromosomes sexuels. - j. Les chromosomes sexuels à la diacinèse, à l'état d'univalents.

Une cellule au diplotène dont nous avons pu réaliser le caryotype (FIG. 4 a.) possède 62 chiasmas, répartis par bivalent comme suit : (Tableau 8). Dans ce chiffre, la liaison des chromosomes sexuels n'a pas été comptée et l'on a remarqué deux chiasmas unilatéraux, dans les plus petits chromosomes.

- TABLEAU 8 -

DIFFERENTS TYPES DE CHIASMAS DANS UNE CELLULE AU DIPLOTENE

Types de bivalent	Nombre de chiasmas
Bivalents à 1 chiasmata	7
Bivalents à 2 chiasmas	14
Bivalents à 3 chiasmas	6
Bivalents à 4 chiasmas	1
Bivalents à 5 chiasmas	1

La fréquence de cellules au stade du diplotène est très faible ; malgré ce nombre réduit, on remarque la présence de quelques cellules à $2n$ bivalents (Fig. 4. b).

A mesure que les chromosomes avancent vers la diacinèse et la métaphase I, ils se raccourcissent et les chiasmas suivent le processus de terminalisation. A la diacinèse et à la métaphase I, les bivalents sont aisément identifiables et pratiquement toutes les cellules se trouvant dans ces stades, se prêtent à l'obtention et à l'analyse du caryotype.

A la diacinèse et à la métaphase I, le bivalent sexuel, contrairement aux stades précédents où il avait une hétérochromatie positive, a l'aspect hétérochromatique négatif, montrant une coloration plus faible que les autosomes (FIG. 3, f). Dans la majorité des cellules il se trouve à la périphérie du noyau. Dans une proportion assez importante des cas (33,3 %) les deux chromosomes sexuels étaient déjà séparés et se présentaient à l'état d'univalents (FIG. 4, j).

Nous avons observé à la diacinèse et à la métaphase I plusieurs types de chiasmas (Tableau 9). Pour calculer le coefficient de terminalisation, nous avons compté séparément le nombre moyen de chiasmas par cellule et le nombre moyen de chiasmas terminaux. On remarque la présence de chiasmas unilatéraux (1,55 par cellule) rencontrés toujours sur les plus petits chromosomes (FIG. 3, f). Nous considérons ce type de chiasmas comme l'achèvement du processus de terminalisation et le début de la séparation des univalents. Nous avons considéré séparément les bivalents ouverts d'un côté, avec une fréquence moyenne par cellule plus faible que les chiasmas unilatéraux (voir tableau 9).

- TABLEAU 9 -

DISTRIBUTION DES DIFFERENTS TYPES DE CHIASMES A LA DIACINESE

Nombre total de cellules analysées	Nombre de bivalents analysés	Nombre total de chiasmés	Nombre moyen de chiasmés par cellule	Index de recombi- naison	Nombre total de chiasmés terminaux	Nombre moyen de chiasmés terminaux	Coeffi- cient de termina- lisation %	Nombre total et moyen de chiasmés unilatéraux	Nombre total et moyen de chiasmés ouverts d'un côté
38	1 140	2 042	53,73	82,73	1 254	33	0,61	59 1,55	44 1,26

Le nombre total moyen par cellule de chiasmas, dans ces stades, est plus petit qu'au diplotène, ceci étant dû au processus de terminalisation. Le coefficient de terminalisation moyen pour l'ensemble de cellules étudiées est de 0,61 % et l'index de recombinaison, calculé selon la formule de FORD (1969) est de 82,73.

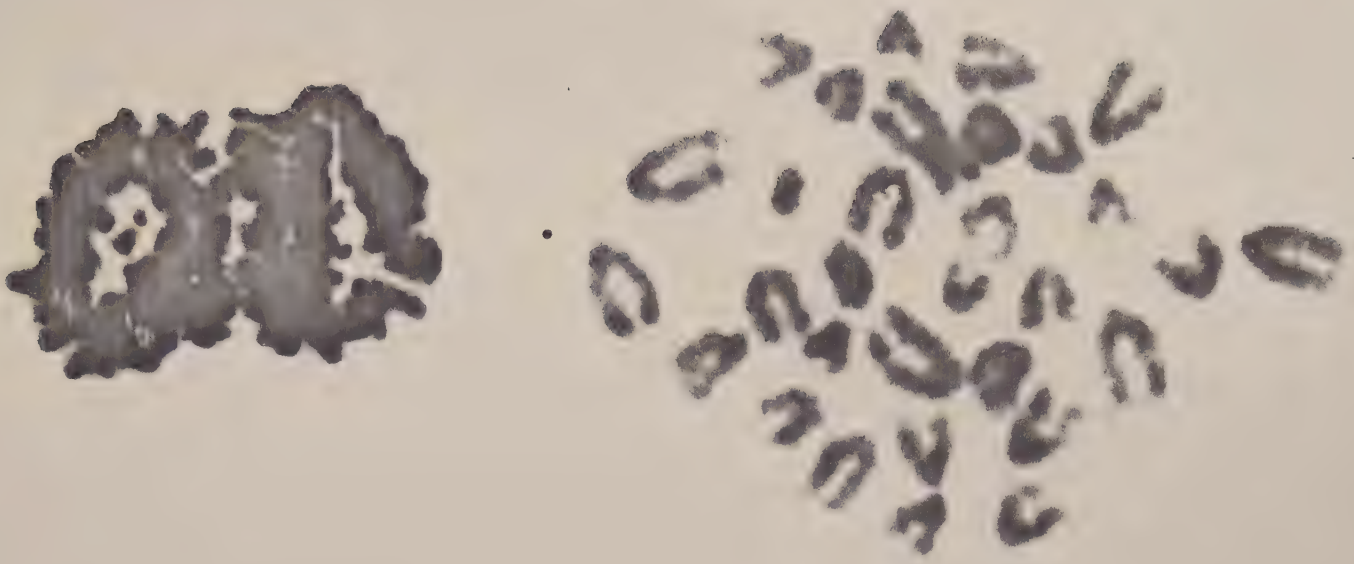
A l'anaphase I les chromosomes se séparent et se dirigent vers les pôles opposés (Fig. 5, a). Ces derniers stades semblent avoir des durées très courtes. Dans nos préparations, nous avons trouvé peu de cellules à l'anaphase I et aucune cellule à la télophase I.

b) La vésicule sexuelle et le bivalent sexuel.

Dès le début du stade leptotène et jusqu'à la fin du pachytène, les deux chromosomes sexuels se trouvent enveloppés dans une structure hétérochromatique, située presque toujours à la périphérie du noyau et appelée vésicule sexuelle. A cause de cette situation, l'étude des chromosomes sexuels durant ces stades est extrêmement difficile et leurs détails morphologiques échappent à l'observation.

La vésicule sexuelle se présente sous la forme d'un corpuscule rond ou ovale et à l'intérieur on peut distinguer des tâches sombres, fortement hétérochromatiques qui représenteraient les deux chromosomes sexuels contractés (Fig. 4, c). Vers la fin du pachytène, avant sa disparition, les formes diffuses visibles à l'intérieur de la vésicule deviennent plus précises et on peut souvent observer des structures rappelant les chromatides (Fig. 4, d).

b



d

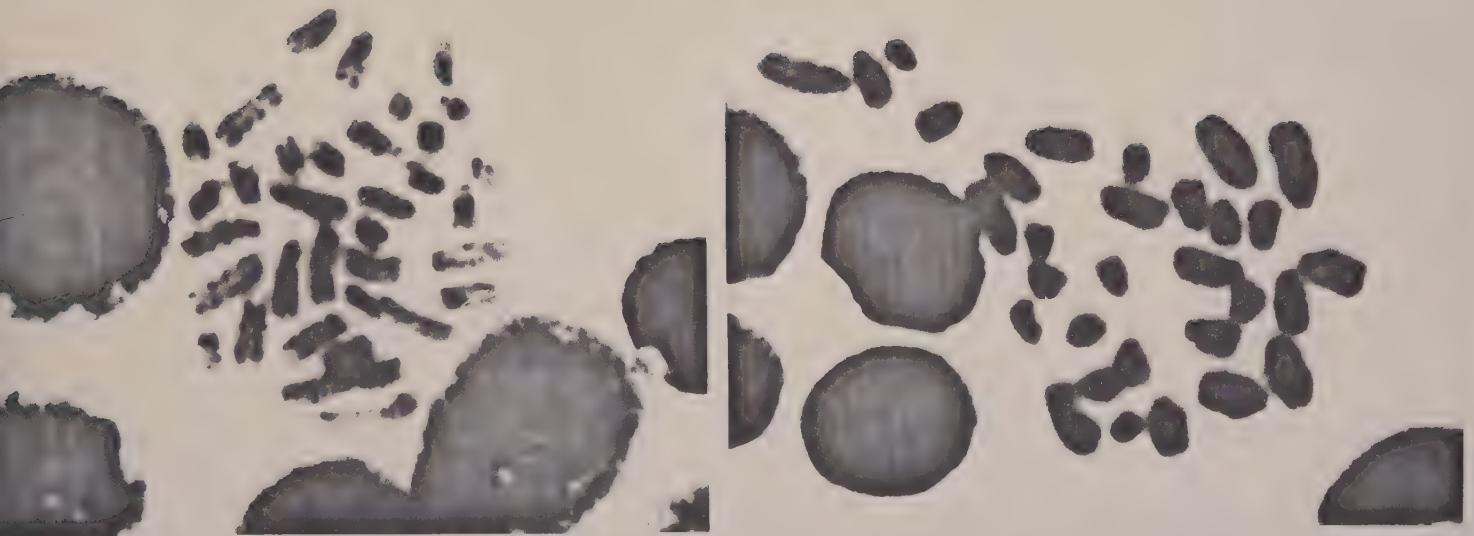


FIG. 5 a. Anaphase I. - b, c. Métaphase II normales à 30 chromosomes - d. Métaphase II à 31 chromosomes.

Deux cellules surprises juste après la disparition de la vésicule montrent les deux chromosomes sexuels associés sous la forme de deux anneaux (Fig. 4, e, f). L'anneau le plus petit pourrait être considéré comme le chromosome Y et le plus grand, comme le chromosome X. Le fait remarquable est que, même dans l'image qui représente un stade plus avancé vers le diplotène, les deux chromosomes ne sont pas disposés bout-à-bout. De plus, on peut faire une comparaison entre les deux images et l'aspect du bivalent dans le diplotène, à un moment un peu plus avancé (voir Fig. 4, g).

A la diacinèse et à la métaphase I, dans les cellules où les chromosomes sexuels ne se trouvent pas à l'état univalent, le bivalent sexuel a un aspect différent, montrant une disposition bout-à-bout (Fig. 4, h, i). Dans certains cas, on peut distinguer la limite entre les deux chromosomes, une succession de zones plus claires et de zones plus foncées et l'emplacement présomptif des deux centromères.

c) Les spermatocytes secondaires.

Les spermatocytes secondaires issus de la première division méiotique, vont subir la deuxième division qui, elle, ressemble parfaitement à une mitose normale.

Parmi les stades de cette deuxième division, nous avons rencontré surtout des métaphases II. Elles contiennent le nombre

haploïde de chromosomes autosomaux et l'un des deux chromosomes sexuels. Les cellules analysées présentaient généralement le nombre normal de 30 chromosomes (Fig. 5, b, c). Nous avons noté toutefois la présence de quelques cellules anormales, à 31 chromosomes (Fig. 5, d).

Dans les métaphases II étudiées, nous avons trouvé deux types : d'une part des cellules aux chromosomes relaxés, avec la structure chromomérique visible (Fig. 5, c) et d'autre part, des cellules avec des chromosomes fortement contractés (Fig. 5, b). Nous avons considéré les premières comme des prophases II et les dernières, des métaphases II. Dans nos préparations nous n'avons pas trouvé de cellule à l'anaphase II et à la télophase II.

DISCUSSIONS - LES STADES PREMÉIOTIQUES.

Etudiant les spermatogonies de taureau, KNUDSEN et BRYNE (1960) ont trouvé une différence nette entre l'aspect des chromosomes des deux types de spermatogonies. Selon ces auteurs, les spermatogonies A auraient des chromosomes filiformes, despiralisés et les spermatogonies B des chromosomes contractés et présentant une bosse à la partie distale ("knob chromosomes").

Nous avons trouvé deux types différents de divisions spermatogoniales correspondant aux deux types principaux de spermatogonies. Ces différences concernent surtout le degré de spiralisation et la colorabilité des chromosomes. Nous n'avons pas remarqué la présence des "knob chromosomes" dans les spermatogonies B, mais seulement, dans certains cas, une région hétérochromatique positive autour des centromères dans les spermatogonies A (Fig. 2, e).

LAVAPPA et YERGANIAN (1970) décrivent chez le hamster arménien (*Cricetus migratorius*) la présence des deux types de métaphases spermatogoniales : celles des spermatogonies A, avec des chromosomes décontractés, fortement colorés et celles des spermatogonies B où les chromosomes sont plus contractés et la structure chromomérique visible. Ils appellent le premier type "dark type" et le deuxième "light type" selon la coloration plus ou moins forte. Contrairement à ce que nous avons noté chez les spermatogonies A du taureau, l'image d'une spermatogonie A présentée par ces auteurs montre des zones hétérochromatiques négatives dans les régions centromériques, situation typique pour une constriction primaire.

En accord avec LAVAPPA et YERGANIAN (1970) nous considérons que les différences concernant le degré de spiralisation et la morphologie des spermatogonies A et B sont dûes au fait que les deux types de cellules se trouvent dans des étapes différentes de la synthèse d'ADN.

Nous avons remarqué un taux assez important de cellules spermatogoniales polyploïdes (7,5 %). Ces cellules anormales représentaient des spermatogonies A et des spermatogonies B. L'existence d'un taux plus ou moins important de cellules spermatogoniales, possédant un nombre hypo ou hyper-diploïde de chromosomes a été déjà observée chez plusieurs espèces. BOMSEL-HELMREICH (1959) trouve dans les spermatogonies du Bélier, seulement 65 % de cellules avec le nombre modal de chromosomes. FECHHEIMER (1961) observe chez la souris 18 % de spermatogonies s'écartant du nombre chromosomique anormal. Chez l'homme, SASAKI et MAKINO (1965) ont décrit, dans les spermatogonies, 7,1 % de

cellules polyploïdes. LUCIANI (1970), toujours chez l'homme note, lui aussi, la présence de spermatogonies polyploïdes, sans toutefois donner des résultats quantitatifs. THIBAUT et BOMSEL-HELMREICH (1963), dans une revue bibliographique sur la variation des chromosomes chez les mammifères, posent le problème des anomalies qui pourraient découler si ces cellules anormales arrivent à donner naissance à des spermatozoïdes et de leur influence sur le rendement de la spermatogenèse. En effet, si le nombre élevé de spermatogonies reste difficilement explicable, leur rôle pourrait être important dans la production de spermatozoïdes anormaux.

La disposition "en bouquet" des chromosomes, mise en évidence par MELANDER et KNUDSEN (1953) et BATTAGLIA et CENNI (1959) dans les premiers stades de la méïose, n'est pas souvent visible dans nos préparations, probablement à cause du traitement hypotonique. Pourtant, il est généralement admis que les chromosomes méïotiques présentent une certaine polarisation dans le noyau, disposition qui, selon SWANSON (1957) faciliterait l'appariement des homologues. Toujours à cause du choc hypotonique, nous avons rarement observé le nucléole qui est particulièrement visible au pachytène. La même observation a été faite par GUSTAVSSON (1969) dans les cellules méïotiques du taureau.

MELANDER et KNUDSEN (1953) ont décrit chez le taureau, dans les spermatogonies interphasiques et les premiers stades de la méïose, un type spécial de chromomère, les chromomères distaux ("end-chromomeres") ayant une coloration plus forte par rapport au reste du chromosome. Nous avons observé, surtout dans les

chromosomes pachyténiques, une zone à hétérochromatie positive, située probablement, dans la région du centromère. Nous n'avons pas remarqué l'existence d'un type différent de chromomère.

LE BIVALENT SEXUEL.

Un des problèmes les plus controversés de la cytogénétique actuelle est le comportement des chromosomes sexuels pendant la division méiotique. En fait, il s'agit d'un problème plus général : l'existence d'un sex-linkage total ou au contraire, partiel chez l'homme et chez les mammifères. Un sex-linkage partiel supposerait l'existence d'un crossing-over entre le chromosome X et l'Y donc, l'existence des chiasmas qui en constituent l'expression cytologique. Les opinions sont différentes sur ce sujet qui a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs.

DARLINGTON (1931) postulait qu'une ségrégation normale pendant la méiose ne peut avoir lieu que s'il y a eu au moins un chiasmata entre les deux chromosomes homologues. Pour expliquer le cas particulier des chromosomes sexuels, DARLINGTON admettait l'existence sur les deux chromosomes de segments homologues, entre lesquels il y aurait des chiasmas et des segments non homologues entre lesquels il n'y en aurait pas.

HALDANE (1936) admettait, lui aussi, l'existence d'un sex-linkage partiel chez l'homme sans apporter des preuves concluantes.

Au contraire, OHNO (1965) exclut toute éventualité d'un échange de matériel génétique entre le chromosome X et l'Y. Il affirme que les deux chromosomes sexuels des mammifères provien-

nent d'une paire d'autosomes et qu'ils ont subi une évolution différente : les gènes sexuels mâles se sont groupés sur un court segment du chromosome Y pendant que le chromosome X gardait ses gènes avec leur linkage originel, sur toute sa longueur. Ainsi, le chromosome Y aurait perdu, par élimination la majorité des gènes autosomaux, contrairement au chromosome X, ce qui aboutissait à un mécanisme de compensation de dose par inactivation génétique de ce dernier chez la femelle. Cette évolution différente ne pouvait avoir lieu que si les deux chromosomes étaient parfaitement isolés l'un de l'autre, et, aussi bien, de tout contact avec les autosomes pendant la division méiotique. Ce rôle de protection serait assuré par la vésicule sexuelle et l'état hétéropycnotique dans lequel se trouvent les deux chromosomes durant les premières phases de la prophase méiotique. Mais, la découverte de quelques gènes mendéliens placés sur le chromosome Y et la mise en évidence, chez quelques espèces de mammifères, des crossing-over entre l'X et le Y, ont remis en actualité ce problème.

Cette contradiction pourrait être résolue à l'aide de preuves génétiques et cytologiques. Sur le plan cytologique, la présence ou l'absence d'un crossing-over entre les chromosomes sexuels pose plusieurs questions : le comportement des deux chromosomes dans la vésicule sexuelle pendant les premiers stades de la méiose, la façon dont il sont associés dans le bivalent sexuel et la raison pour laquelle, dans un certain nombre de cellules à la diacinèse et métaphase I, ces deux chromosomes se trouvent à l'état d'univalents.

La vésicule sexuelle a été étudiée par plusieurs chercheurs (MAKINO, 1941, TJIO et LEVAN, 1956, MITTWOCH, 1967) chez l'homme et chez quelques espèces de rongeurs. Bien que son aspect soit différent d'une espèce à l'autre, elle se présente, en général, sous la forme d'un corpuscule hétérochromatique contenant à l'intérieur les deux chromosomes sexuels. La composition chimique est constituée de RNA selon EBERLE (1963) cité par FORD et WOOLLAM (1966) et de DNA, selon SACHS (1955).

A cause de la présence de cette vésicule, le comportement des chromosomes sexuels à l'intérieur de celle-ci est difficilement observable. La grande majorité des mammifères, présentent, après la disparition de la vésicule, une association bout-à-bout des chromosomes sexuels. Mais certains auteurs pensent que le comportement serait différent durant les stades où ils se trouvent à l'intérieur de cette structure. En raison des dimensions de la vésicule sexuelle et des limites de la microscopie optique, plusieurs études ont été entreprises à l'aide de la microscopie électronique. SOLARI (1964) et FORD et WOOLLAM (1966) ont étudié au microscope électronique la vésicule sexuelle chez la souris et, respectivement chez la souris et deux espèces de hamster. FORD et WOOLLAM (1966) trouvent chez la souris et le hamster doré (*Mesocricetus auratus*) des images montrant sans aucun doute, une association côte-à-côte des chromosomes sexuels à l'intérieur de la vésicule, situation tout à fait contraire au type d'association bout-à-bout visible à la diacinèse chez ces deux mêmes espèces. En plus, chez le hamster doré, ils mettent en évidence un élément du complexe synaptinémal, preuve majeure de l'existence du synapsis entre les chromosomes homologues méiotiques. Les auteurs affirment même que la disposition ultérieure bout-à-bout serait provoquée par une action mécanique

de la membrane nucléaire, à laquelle les chromosomes sexuels sont attachés durant les stades où ils se trouvent à l'intérieur de la vésicule.

Chez le taureau la première observation sur la vésicule sexuelle est due à GUSTAVSSON (1969) qui note sa présence au début du leptotène jusqu'à la fin du pachytène et à l'intérieur de laquelle les chromosomes sexuels deviennent visibles avant sa disparition. Dans les travaux antérieurs portant sur les chromosomes méiotiques du taureau (MAKINO, 1944 a, MELANDER et KNUDSEN, 1953, POSTIGLIONI-GRIMALDI, 1957, BATTAGLIA et CENNI, 1959, KNUDSEN et BRYNE, 1960) bien que les chromosomes sexuels soient décrits, la vésicule sexuelle n'est pas mentionnée.

Nous avons décrit cette vésicule avec le même manque de détails en raison des difficultés d'observation. Dans certaines cellules nous avons observé des structures rappelant les chromatides, fortement contractées dans les stades précoces et relativement relaxées dans le pachytène tardif. Dans les cellules observées juste après la disparition de la vésicule, nous avons remarqué une association qui n'était pas bout-à-bout et qui paraissait assez forte, entre les deux chromosomes sexuels. Elle pourrait représenter la disposition des chromosomes existant à l'intérieur de la vésicule.

Si le comportement des chromosomes dans la vésicule sexuelle est peu connu, l'association du bivalent sexuel dans la diacinèse et métaphase I, pourtant aisément observable, constitue elle aussi, l'objet d'interprétations différentes, ainsi que la présence ou l'absence des chiasmas. KOLLER (1937) cité par HULTEN

et coll. (1966) trouve des arguments en faveur de l'existence des chiasmas entre les chromosomes sexuels humains. SACHS (1954) affirme, au contraire, qu'il n'y aurait pas de segments homologues sur les deux chromosomes humains. FORD et HAMERTON (1965) en utilisant des techniques cytogénétiques, remarquent que parmi plusieurs types d'associations terminales rencontrés dans le bivalent sexuel humain, certains pourraient être interprétés comme des chiasmas terminaux. FORD (1962) en tenant compte des résultats acquis chez différentes espèces de mammifères, affirme que l'existence des segments homologues entre l'X et l'Y peut être supposée mais non prouvée. SASAKI et MAKINO (1965) arrivent à la même conclusion. HULTEN et coll. (1966) observent dans les points de liaison du bivalent sexuel des filaments fins, rencontrés normalement dans les chiasmas terminaux. MITTWOCH (1967) pense qu'un seul chiasma, après la terminalisation, pourrait être considéré comme une liaison bout-à-bout, comme on en trouve souvent parmi les plus petits chromosomes chez l'homme et la souris.

Récemment REITALU (1970) dans une étude sur le comportement du bivalent sexuel humain, affirme que la liaison entre X et Y ne serait pas une liaison ponctuelle mais qu'elle aurait lieu entre segments chromosomiques et, par conséquent, l'existence des segments homologues serait plausible.

Quant au bivalent sexuel du taureau, les données sont moins nombreuses mais aussi controversées. MAKINO (1944 a) a décrit chez le taureau une association bout-à-bout des chromosomes sexuels sans admettre l'existence d'une homologie. Au contraire, MELANDER et KNUDSEN (1953) donnent un schéma du bivalent sexuel dans lequel les deux chromosomes ont des segments

homologues, disposés côte-à-côte et des segments non homologues. Ils affirment avec certitude la formation de chiasmas entre les segments homologues. BATTAGLIA et CENNI (1959) notent une association bout-à-bout, avec la formation d'un chiasma distal.

Dans toutes les diacinèses et métaphases I étudiées, nous avons toujours observé une liaison bout-à-bout des chromosomes sexuels, mais qui ressemblait beaucoup à un chiasma terminal. Sans avoir jamais vu une image semblable au schéma présenté par MELANDER et KNUDSEN (1953) nous pensons toutefois, comme REITALU (1970) que la liaison entre l'X et l'Y du taureau n'entraîne pas seulement deux points de contact et qu'elle pourrait être considérée comme un chiasma terminal.

Dans un nombre élevé de métaphases étudiées (13 sur 39, soit 33,3 %) les chromosomes sexuels se trouvaient à l'état univalent. Cette situation a été déjà observée chez l'homme et chez d'autres espèces et interprétée différemment. FORD et HAMERTON (1956) trouvent les chromosomes sexuels séparés dans 14 % de cellules et expliquent ce phénomène par une terminalisation ou par une disjonction précoce. HAMERTON (1961) pense que cette séparation serait tout simplement provoquée par un manque d'association.

FORD et EVANS (1964, dans une étude de la méiose chez la souris, affirment que la séparation du bivalent serait due en partie aux manipulations techniques. SASAKI et MAKINO (1965) trouvent chez l'homme, dans 27 % de cellules le bivalent séparé ; ils admettent, comme seule explication possible, les manipulations techniques. HULTEN et coll. (1966) observent des pourcen-

tages variables, de 18 à 28 % et expliquent la séparation par une disjonction précoce, plutôt que par un manque d'appariement. LUCIANI (1970) invoque les manipulations techniques à l'origine de la séparation mais s'associe, lui aussi, à l'hypothèse d'une disjonction précoce.

Nous pensons que l'interprétation donnée à ce phénomène est dépendante de la façon dont on considère l'association des chromosomes sexuels dans la méïose mâle. Si l'on admet la formation d'un chiasma entre les deux chromosomes, sans écarter complètement le rôle des manipulations techniques, on peut considérer cette séparation comme une disjonction précoce de deux chromosomes ayant accompli le processus de terminalisation. Dans la majorité de cellules étudiées, nous avons remarqué l'existence d'un ou plusieurs petits autosomes (1,55 en moyenne par cellule) (voir tableau 9) qui présentaient des chiasmas unilatéraux et, dans certaines cellules, se trouvaient déjà en voie de séparation.

Avec les techniques cytologiques actuelles, nous pensons que l'observation directe des chromosomes méïotiques n'est pas suffisante et que pour résoudre le problème du bivalent sexuel mâle et, implicitement, l'existence d'un sex-linkage total ou partiel il faudrait apporter des preuves génétiques.

LES CHIASMAS.

Pour faciliter le comptage des chiasmas nous avons établi le caryotype de plusieurs cellules en diacinèse et métaphase I, mais la disposition des bivalents dans la série décroissante reste incertaine. Du fait de leur morphologie irrégulière, les mesures à l'aide des méthodes utilisées pour les chromosomes

somatiques sont ici impraticables. En raison des difficultés d'identification, nous n'avons pas pu établir si un certain nombre de chiasmas est caractéristique d'un certain bivalent. La seule constatation valable est que le nombre de chiasmas augmente avec la taille du bivalent.

Nous avons trouvé une fréquence moyenne de 53,73 chiasmas par cellule et un coefficient de terminalisation de 0,61 (Tableau 9). En l'absence de données semblables pour cette espèce nous ne pouvons faire une analyse comparative. Chez l'homme, les fréquences trouvées par différents auteurs varient considérablement : de 44 (EBERLE, 1966, cité par LUCIANI, 1970) à 55,9 (FORD et HAMERTON, 1956) chiasmas par cellule.

La fréquence moyenne de 53,73 chiasmas par cellule donne une moyenne de 1,78 chiasmas par bivalent. Selon FORD (1962) chaque chiasma représenterait 50 unités de cross-over par bivalent. FORD (1962) trouve chez l'homme, d'après les comptages de FORD et HAMERTON (1956) une moyenne de 125 unités de cross-over par bivalent. Mais, le nombre de chiasmas étant en fonction de la taille du chromosome chez l'homme aussi bien que chez le taureau et les autres espèces, le nombre d'unités de cross-over, varie d'un bivalent à l'autre.

Nous avons déterminé, avec une certaine approximation due à la subjectivité de l'interprétation, le nombre moyen de chiasmas ouverts d'un côté, par cellule (1,26. Tableau 9). LUCIANI (1970) en accord avec les conclusions d'EBERLE (1966) cité par LUCIANI (1970), affirme que ce type de chiasma serait caractéristique des chromosomes acrocentriques.

Il donne comme argument la coïncidence parfaite entre la fréquence moyenne par cellule de ce type de chiasma et le nombre de chromosomes acrocentriques humains. Nous pensons qu'au moins pour *Bos taurus*, cette hypothèse n'est pas valable car le caryotype de cette espèce compte 58 autosomes, tous acrocentriques, tandis que la fréquence des chiasmas ouverts d'un côté est de 1,26 par cellule. En plus les bivalents du taureau présentent tous les types de chiasmas rencontrés chez des espèces qui ont des chromosomes plus variés, du point de vue morphologique.

°
° °

Plusieurs travaux ont mis en évidence chez l'homme des anomalies de la méïose associées à des troubles de la fertilité (MAC ILREE et coll. 1966 b, de GROUCHY et LUMBROSO, 1969, HULTEN et coll. 1970). Chez les animaux domestiques et particulièrement chez le taureau, les données sont peu nombreuses. Quelques études portent notamment sur la présence de chromosomes anormaux (KNUDSEN, 1961) ou sur des modifications de la durée des stades méïotiques (HENRICSON et BÄCKSTRÖM, 1964) chez des animaux atteints des troubles de fertilité. Une meilleure connaissance du comportement et des paramètres normaux des chromosomes méïotiques pourrait fournir des éléments de références dans les études des cas pathologiques.

- CHAPITRE V -

LE CARYOTYPE DES HYBRIDES BOS TAURUS X BOS GRUNNIENS

L'hybridation interspécifique constitue, dans le domaine végétal, un moyen important d'amélioration des espèces. Dans le monde animal, l'échange de gènes entre deux espèces est plus limité et protégé par différents mécanismes d'isolement. Chez les mammifères particulièrement, la stérilité plus ou moins marquée des hybrides interspécifiques, rend l'hybridation difficile.

Les études cytogénétiques pratiquées sur les hybrides interspécifiques contribuent à la connaissance des causes de l'infertilité ou, dans certains cas, comme le hybride chèvre-mouton, expliquent l'impossibilité de l'obtention des hybrides viables.

Il existe actuellement plusieurs hybrides obtenus entre le boeuf domestique et des espèces voisines.: Bos indicus, Bison bonasus, Bison bison et Bos grunniens, etc.

Du point de vue économique, le plus important est l'hybride Bos taurus X Bos indicus qui est à l'origine de la race Santa Gertrudis. Selon RHOAD (cité par KIEFFER et CARTWRIGHT, 1968) plusieurs races de boeuf Zébu (Bos indicus) ont été importées en Amérique et croisées avec des bovins d'origine européenne. La race "American Brahman" a été ainsi créée par des croisements interspécifiques et des back-crosses répétés. Ensuite, des bovins Brahman ont été croisés avec des exemplaires Shorthorn, menant à la formation de la race Santa Gertrudis. Cette hybridation a été

possible grâce à une interfertilité complète entre ces deux espèces. Du point de vue chromosomique les deux espèces présentent de grandes similitudes : le nombre chromosomique est le même, 60 chromosomes et les autosomes, ainsi que le chromosome X, ont la même forme.

La seule différence concerne le chromosome Y : il est submétacentrique chez *Bos taurus* et acrocentrique chez *Bos indicus*. Selon KIEFFER et CARTWRIGHT (1968) le chromosome Y peut être utilisé comme un marqueur pour déceler l'origine de certains animaux des races américaines. Ces auteurs pensent que la différence morphologique entre le chromosome Y de *Bos taurus* et *Bos indicus* serait due à une inversion péricentrique, sans avoir entraîné des modifications importantes du génome. En raison de ces différences chromosomiques minimales et de leur interfertilité, ils ne trouvent plus justifiée leur classification en deux espèces distinctes.

Le caryotype du Bison européen (*Bison bonasus*) est encore plus proche de celui de Boeuf domestique. Décrit par MELANDER (1959) chez la femelle et après par KOULICHER et coll. (1967) chez le mâle, il contient 58 autosomes acrocentriques, le chromosome X ainsi que l'Y, submétacentriques. Les hybrides *Bos taurus* X *Bison bonasus* sont rares mais, selon MELANDER (1959) ils seraient parfaitement fertiles en F_1 .

Le bison américain (*Bison bison*) a, lui aussi, 60 chromosomes : les autosomes et le chromosome X ont la même forme que chez le boeuf, mais le chromosome Y est acrocentrique comme chez le *Bos indicus* (BASRUR et MOON, 1967, BHAMBHANI et KUSPIRA, 1969). Les hybrides mâles (appelés "cattalos") sont stériles tandis que les femelles sont fertiles. Certaines caractéristiques

utiles des hybrides comme la qualité de la viande et leur résistance remarquable aux maladies, justifieraient les essais d'hybridation en vue d'obtenir une lignée "cattalos". Mais, cette réalisation à l'échelle commerciale est empêchée par l'infertilité des hybrides mâles (PETERS, 1964). Toutefois, un certain degré de fertilité mâle pourrait être obtenu par des croisements back-cross (BASRUR, 1969). Les hybrides mâles issus d'un second croisement back-cross (12,5 % bison) sont fertiles. Selon BOYD (1914 - cité par BASRUR, 1969) le pourcentage de 25 % bison chez les femelles hybrides serait le maximum pour donner naissance à des mâles fertiles.

BASRUR (1969) trouve une absence totale de spermatogénèse chez un hybride *Bos taurus* x *Bison bison* ayant 31 % de parenté bison. Chez deux autres hybrides (22 % et respectivement 14 % bison) l'auteur observe une spermatogénèse apparemment normale sans toutefois produire de spermatozoïdes viables qui seraient détruits avant d'arriver dans l'épididyme.

Une hybridation souvent réalisée est celle entre *Bos taurus* et *Bos grunniens* (Yak). Le yak est une espèce très répandue en Asie et on apprécie à 7,4 % le nombre des hybrides parmi les 700.000 yaks se trouvent en Mongolie (KUKU BAT OCIRYN, 1965).

°
° °

Nous avons pu étudier plusieurs hybrides issus d'un croisement *Bos grunniens* ♂ x *Bos taurus* ♀ (DERLOGEA et coll., 1966). Extérieurement les hybrides présentaient des caractères intermédiaires entre les espèces parentales. La couleur brune du yak semble se transmettre comme un caractère dominant.

L'évolution du poids est montrée dans le tableau 10, chez les hybrides comparativement aux bovins de race Brune, intéressés dans ce croisement. On constate que généralement les hybrides ont un poids inférieur aux bovins, dès la naissance, mais une vitesse de croissance plus grande. A 24 mois, les hybrides réalisent un poids 13,77 fois supérieur à celui de la naissance, tandis que chez les bovins, cette augmentation est de 9,55 fois.

- TABLEAU 10 -

L'EVOLUTION DU POIDS CHEZ LES BOVINS ET HYBRIDES BOS GRUNNIENS
X BOS TAURUS.

AGE	MALES				FEMELLES			
	BOVINS		HYBRIDES		BOVINS		HYBRIDES	
	n	kg	n	kg	n	kg	n	kg
NAISSANCE	90	37,866	11	24,636	79	36,569	13	25,153
6 mois	82	175,329	9	124,233	74	170,730	11	115,125
12 mois	75	279,440	4	237,250	69	279,944	4	187,500
18 mois	72	337,533	4	292,500	68	334,673	4	263,000
24 mois	58	361,893	2	339,500	57	399,035	4	321,250

Les indices hématologiques ont été déterminés chez les hybrides et chez les espèces parentales (Tableau 11). Le nombre des hématies ainsi que le pourcentage de l'hémoglobine est intermédiaire chez les hybrides des deux sexes, par rapport aux espèces parentales. Les leucocytes, par contre, sont plus nombreux chez les hybrides que chez le yak et les bovins. KUSHNER (1939) avait décrit chez ces hybrides un nombre plus grand d'hématies et un pourcentage plus important d'hémoglobine qu'il expliquait par un effet d'hétérosis.

- TABLEAU 11 -

QUELQUES INDICES HEMATOLOGIQUES CHEZ LE BOEUF, le YAK et LEUR HYBRIDE.

ESPECE	HEMATIES (par mm3)	LEUCOCYTES (par mm3)	HEMOGLOBINE % (SAHLI)
Bos grunniens ♂♂	9 059 000	8 350	79
Bos grunniens ♀♀	9 490 000	8 740	81,5
Hybrides ♂♂	8 627 000	9 160	77,4
Hybrides ♀♀	8 460 000	10 175	77,75
Bos taurus ♀♀	6 059 000	7 050	58,55

Le pourcentage des matières grasses du lait chez les femelles hybrides (6,5 - 7 %) est bien plus élevé que chez les bovins de race Brune (3,71 %) mais inférieur à celui des femelles yak (8 %).

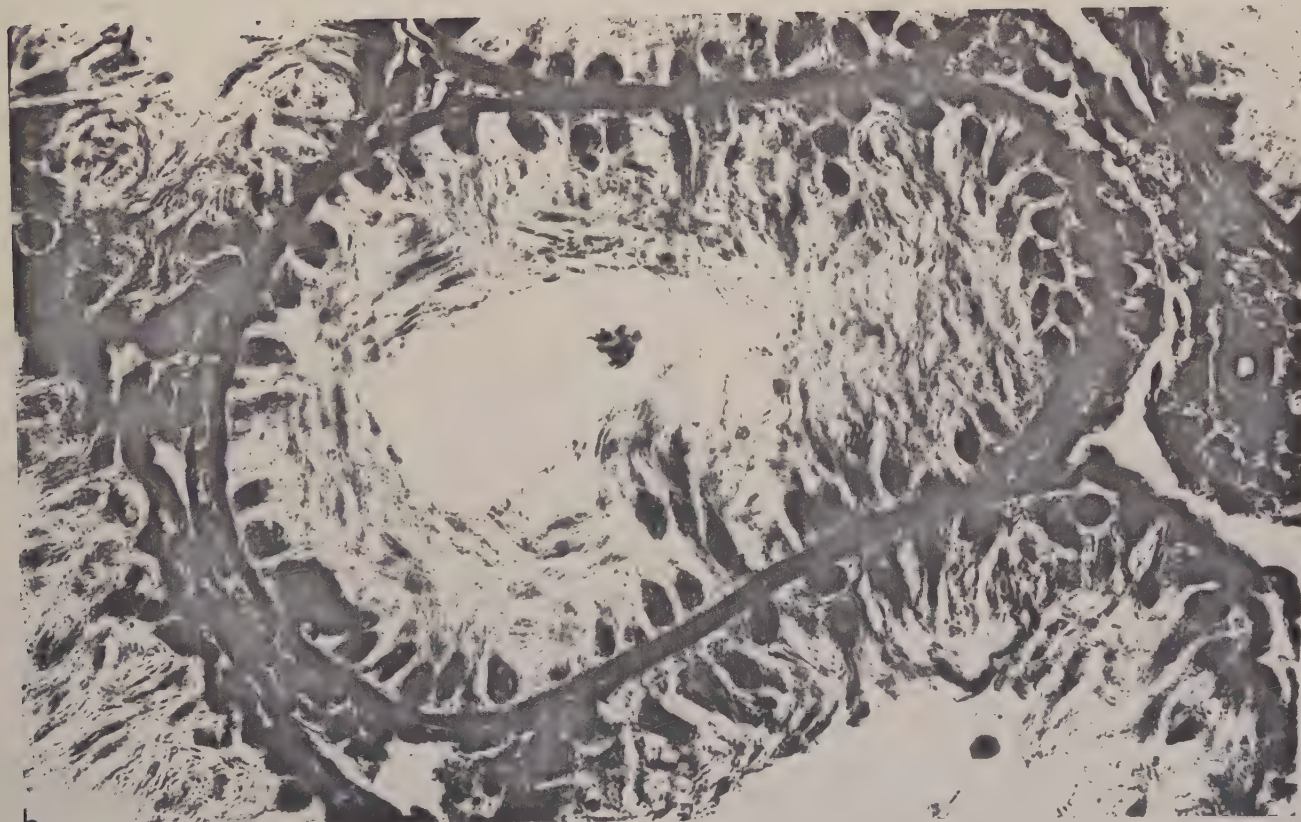
On a remarqué un nombre très important de rétentions placentaires à la naissance des hybrides : 20 sur 22 mises bas.

Les hybrides mâles présentent tous les caractères sexuels secondaires normalement développés mais ils sont totalement stériles. Nous avons étudié en coupes histologiques la structure testiculaire de plusieurs mâles. Des fragments de testicule prélevés à la suite d'une castration ont été fixés dans les fixateurs BOUIN et SOUSA. Les coupes de 5 - 6 μ d'épaisseur ont été colorées à l'hématoxyline-éosine. On a étudié la structure des tubes séminifères et déterminé leur nombre par mm² et leurs diamètres intérieurs et extérieurs. La densité moyenne des tubes séminifères par mm² est de 29,54 (21,5 - 39,77). Le diamètre extérieur est de 231,62 et leur diamètre intérieur de 64,45 .

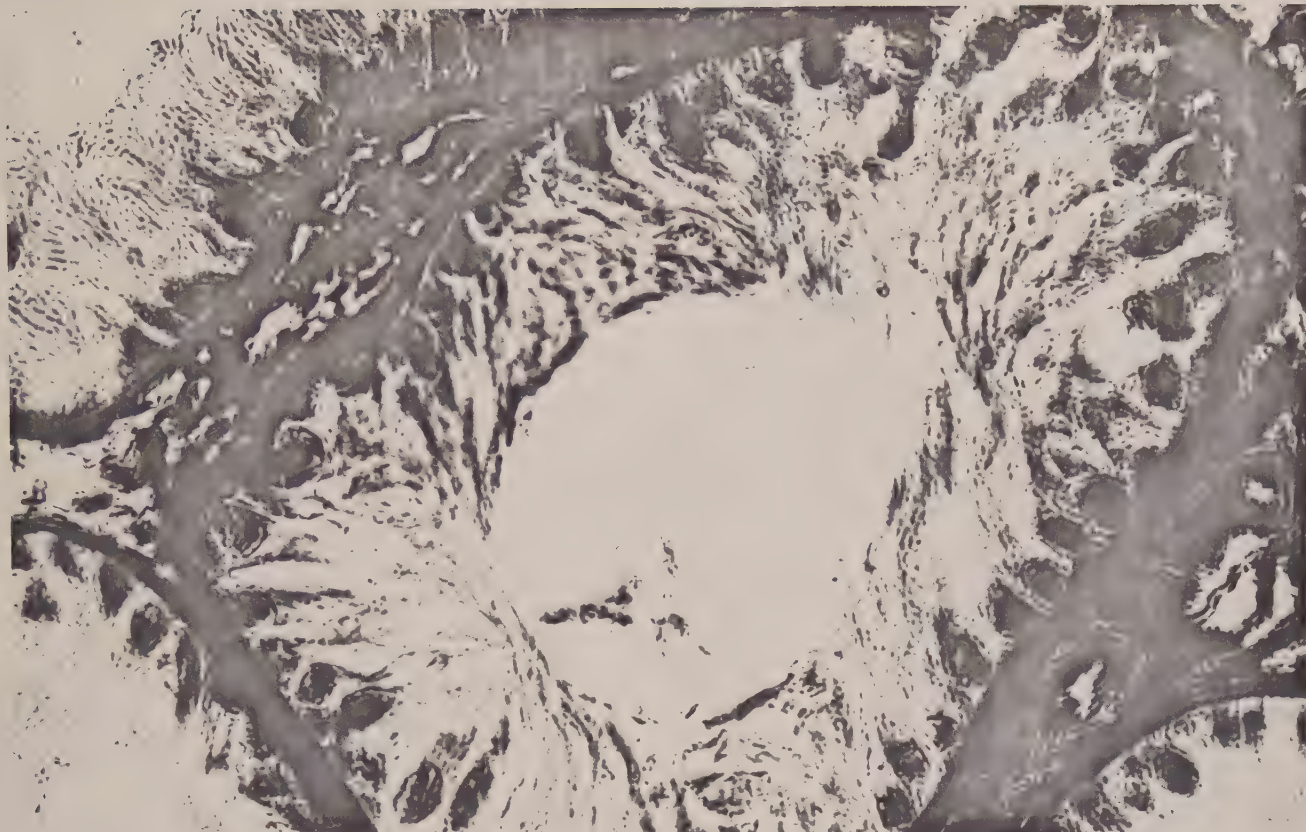
Dans la structure des tubes séminifères on observe surtout des cellules SERTOLI (Fig. 6, 7) et rarement des spermatogonies, une ou deux par tube ; 87,5 % des tubes n'en contiennent pas. Aucun autre élément de la lignée germinale n'est présent. Les spermatogonies observées ne présentaient aucun signe d'activité mitotique. Dans la lumière de certains tubes, on observe des agglomérations de substance amorphe (Fig. 6 b, 7 a).



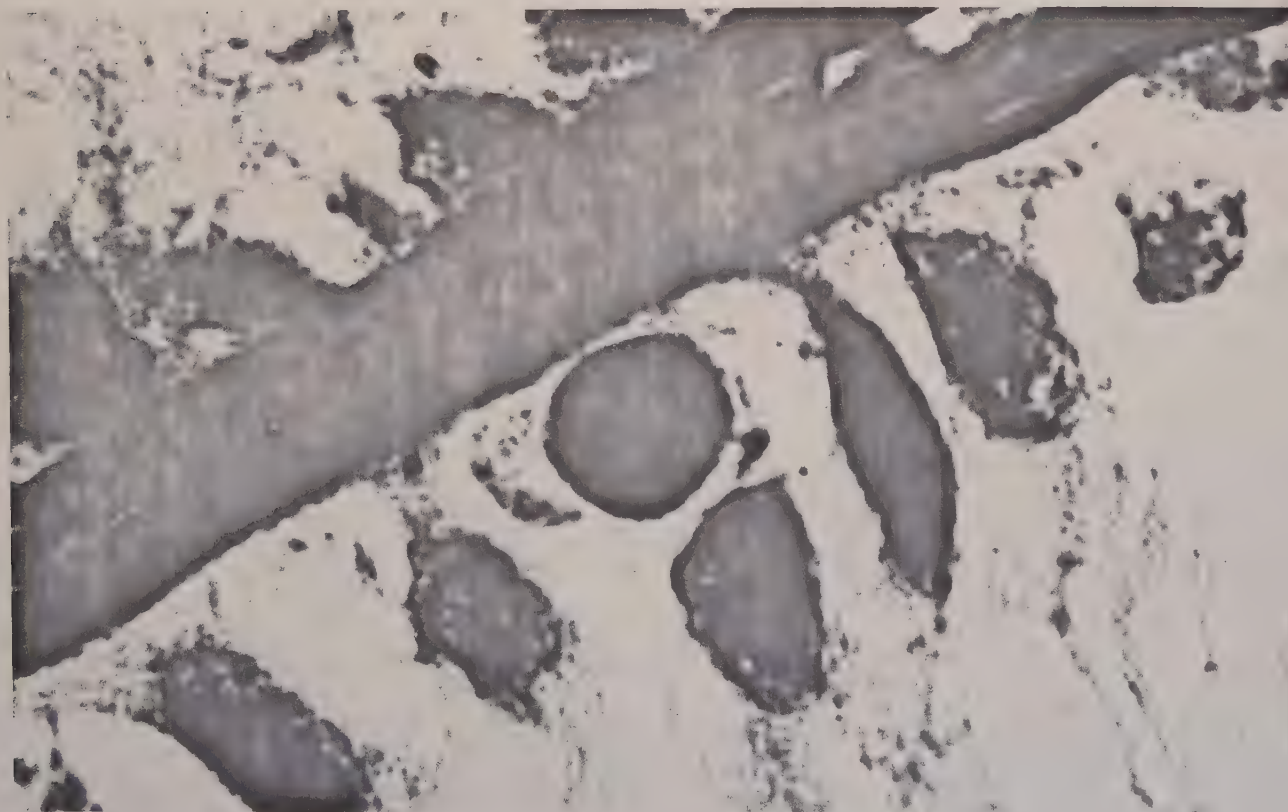
a



b



a



b

FIG. 6 - a, b. Coupes histologiques dans le testicule de l'hybride Bos grunniens x Bos taurus. Tubes séminifères. Noter le développement de la glande interstitielle et l'absence de l'activité spermatogénétique.

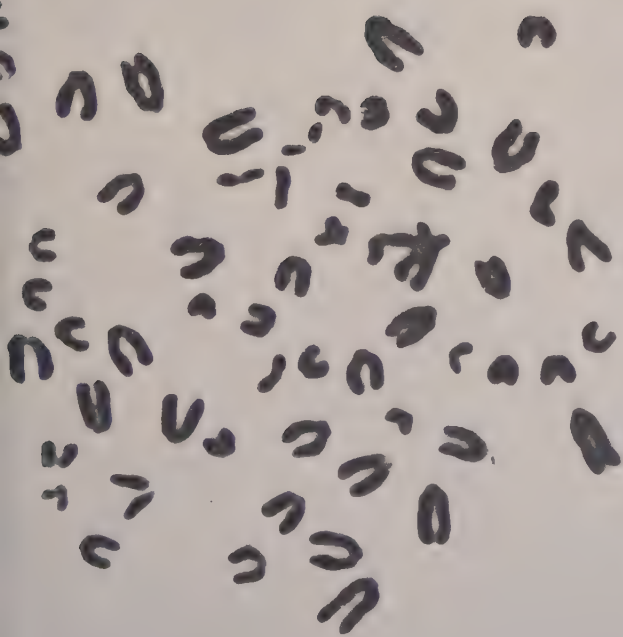
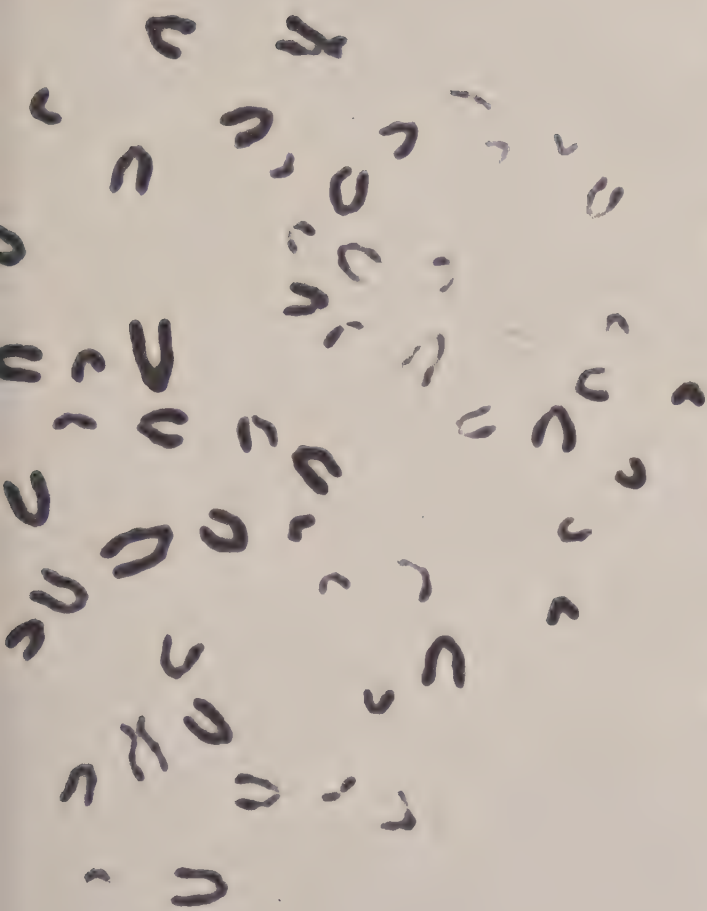
FIG. 7 - Coupes histologiques dans le testicule de l'hybride Bos grunniens x Bos taurus. a. Tube séminifère ; noter la présence dans la lumière d'une substance amorphe.
b. Une spermatogonie et plusieurs cellules de SERTOLI.

La glande interstitielle est très développée : constituée de cellules de LEIDIG de forme globulaire ou polyédrique, abondamment vascularisée, elle a un aspect hypertrophié par rapport aux animaux ayant une spermatogenèse normale.

De nombreuses études ont porté sur les chromosomes des hybrides interspécifiques parce que l'on supposait que parmi les causes de l'infertilité, pouvaient intervenir les différences entre les caryotypes des espèces parentales (MAKINO et coll. 1963, BASRUR et MOON, 1967, BASRUR, 1969, LAY et NADLER, 1969, BHAMBHANI et KUSPIRA, 1969).

Les chromosomes du yak ont été étudiés en coupes histologiques pour la première fois, par ZUITIN. Il trouve d'abord 64 chromosomes (ZUITIN, 1935) et ensuite, 60 (ZUITIN, 1938). Etudiant les chromosomes de cette espèce en culture de leucocytes, nous avons trouvé 60 chromosomes, tout à fait semblables aux chromosomes du boeuf (DERLOGEA et coll. 1967, POPESCU, 1969). Tous les autosomes sont acrocentriques et les deux chromosomes sexuels, submétacentriques (Fig. 8).

Pour connaître les différences et les similitudes entre les espèces parentales et leurs hybrides nous avons étudié compa-



0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

b

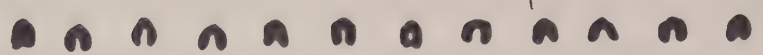
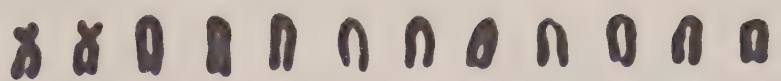
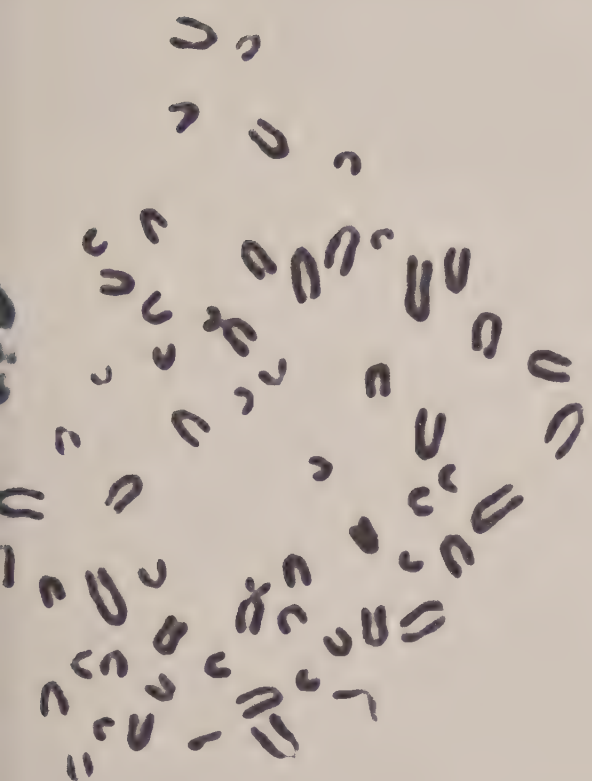
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

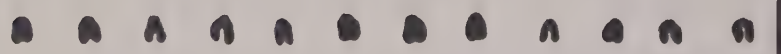
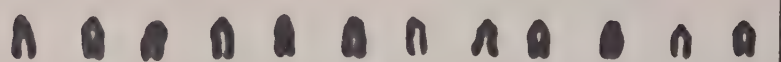
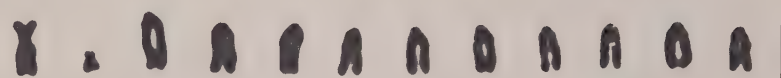
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

X



b



d

FIG. 8 - Métaphase et caryotype de *Bos grunniens*.

a, b. Femelle - c, d. Mâle. Les chromosomes sexuels sont marqués par des flèches.

FIG. 9 - Métaphase et caryotype de l'hybride *Bos grunniens* x *Bos taurus*. a, b. Femelle - c, d. Mâle. Les chromosomes sexuels sont marqués par des flèches.

rativement leurs idiogrammes.

Les idiogrammes du yak et des hybrides (*Bos grunniens* x *Bos taurus*) ont été obtenus suivant les mêmes principes que pour l'idiogramme du boeuf. Les moyennes des longueurs relatives des chromosomes haploïdes du yak et des hybrides, calculées d'abord pour chaque sexe séparément et ensuite pour les deux sexes ensemble, sont données dans les tableaux 12 et 13. Pour chaque chromosome ont été calculées la variance, la déviation standard et l'erreur standard de la moyenne.

Les chromosomes du yak et des hybrides (Fig. 9) étant tous acrocentriques, peuvent être rangés, comme ceux du boeuf, dans une série décroissante. Ne disposant que d'un seul critère, la taille, aucune classification à l'intérieur de cette série n'est possible.

En appliquant une analyse de la variance sur les idiogrammes des espèces parentales, il en résulte qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux idiogrammes considérés dans l'ensemble ($P < 0,055$) mais qu'il y a des différences très significatives ($P < 0,001$) entre les différents groupes de chromosomes des deux espèces et que l'interaction espèce-chromosome est très significative ($P < 0,001$).

- TABLEAU 12 -

L'IDIOGRAMME DU YAK (BOS GRUNNIENS L.)

Rang du Chromosome	BOS GRUNNIENS			
	$\bar{X} \sigma^{\rightarrow}$ (moyenne)	$\bar{X} \varnothing$ (moyenne)	$\bar{X} \sigma^{\rightarrow} \varnothing$	$E_{\bar{X}}$ (Erreur standard)
1	56,68	58,43	57,56	1,20
2	51,66	52,62	52,15	0,58
3	49,30	48,21	48,76	0,58
4	47,20	45,43	46,32	0,54
5	45,88	43,63	44,75	0,67
6	43,56	42,75	43,16	0,54
7	42,29	41,86	42,07	0,52
8	40,71	40,52	40,61	0,43
9	39,84	39,02	39,43	0,30
10	38,63	37,57	38,09	0,35
11	37,82	36,98	37,39	0,29
12	36,30	36,08	36,19	0,27
13	34,54	34,69	34,62	0,30
14	33,34	33,49	33,41	0,66
15	31,42	32,63	32,02	0,37
16	29,68	31,51	30,59	0,39
17	28,45	29,44	28,94	0,38
18	26,56	28,01	27,28	0,28
19	25,42	25,82	25,62	0,30
20	24,24	24,78	24,51	0,30
21	23,49	24,29	23,89	0,34
22	22,40	23,34	22,86	0,35
23	21,55	22,38	21,96	0,36
24	20,70	21,33	21,01	0,35
25	19,70	20,47	20,09	0,33
26	18,93	19,62	19,27	0,33
27	18,13	18,79	18,46	0,42
28	17,54	17,79	17,66	0,38
29	15,92	16,50	16,21	0,46

- TABLEAU 13 -

L' IDIOGRAMME DES HYBRIDES BOS GRUNNIENS ♂ X BOS TAURUS ♀

RANG DU CHROMOSOME	HYBRIDES			
	$\bar{X} \text{ ♂}$ (Moyenne)	$\bar{X} \text{ ♀}$ (Moyenne)	$\bar{X} \text{ ♂ ♀}$	E_{standard} (Erreur standard)
1	56,30	55,03	55,45	0,88
2	50,66	50,43	50,51	0,68
3	47,45	47,59	47,54	0,45
4	45,22	45,35	45,31	0,28
5	44,10	43,93	43,98	0,33
6	43,20	42,77	42,91	0,35
7	42,21	41,78	41,93	0,30
8	41,05	40,94	40,98	0,34
9	39,16	39,53	39,41	0,26
10	37,64	38,28	38,07	0,35
11	36,98	37,11	37,06	0,28
12	35,65	35,82	35,78	0,24
13	33,69	35,62	34,98	0,26
14	32,33	32,65	32,54	0,30
15	30,81	31,13	31,03	0,26
16	29,75	29,76	29,75	0,29
17	28,45	28,34	28,37	0,30
18	27,56	27,53	27,54	0,33
19	26,87	26,97	26,93	0,29
20	26,29	26,19	26,22	0,20
21	25,36	25,41	25,40	0,23
22	24,26	24,73	24,57	0,25
23	22,83	23,78	23,46	0,33
24	22,17	22,42	22,33	0,28
25	21,28	21,40	21,36	0,31
26	20,00	20,26	20,17	0,26
27	18,61	19,38	19,12	0,27
28	17,18	17,74	17,55	0,28
29	14,52	16,04	15,53	0,52

Malgré les ressemblances apparentes entre les idiogrammes de ces deux espèces, il existe cependant des possibilités de les distinguer.

Si l'on divise arbitrairement chaque idiogramme en classes de l'ordre de 10 unités et en comptant le nombre de chromosomes contenus dans chacune, on constate que les espèces parentales ont le même nombre de chromosomes dans deux classes (3 et 4) et un nombre différent dans trois (1, 2 et 5). Les hybrides possèdent pour chaque classe soit un nombre égal à l'une des espèces parentales, soit un nombre intermédiaire (Tableau 14).

- TABLEAU 14 -

LA DISTRIBUTION DES PAIRES CHROMOSOMIQUES DES ESPECES PARENTALES ET DES HYBRIDES, DANS DES GROUPES DE 10 UNITES.

CLASSE		I 10 - 20	II 20 - 30	III 30 - 40	IV 40 - 50	V 50 - 60
Bos grunniens	o	5	9	7	6	2
	o +	4	9	8	6	2
	o o +	4	9	8	6	2
Bos taurus	o	2	12	8	6	1
	o +	2	12	8	6	1
	o o +	2	12	8	6	1
Hybrides	o	3	11	7	6	2
	o +	3	11	7	6	2
	o o +	3	11	7	6	2

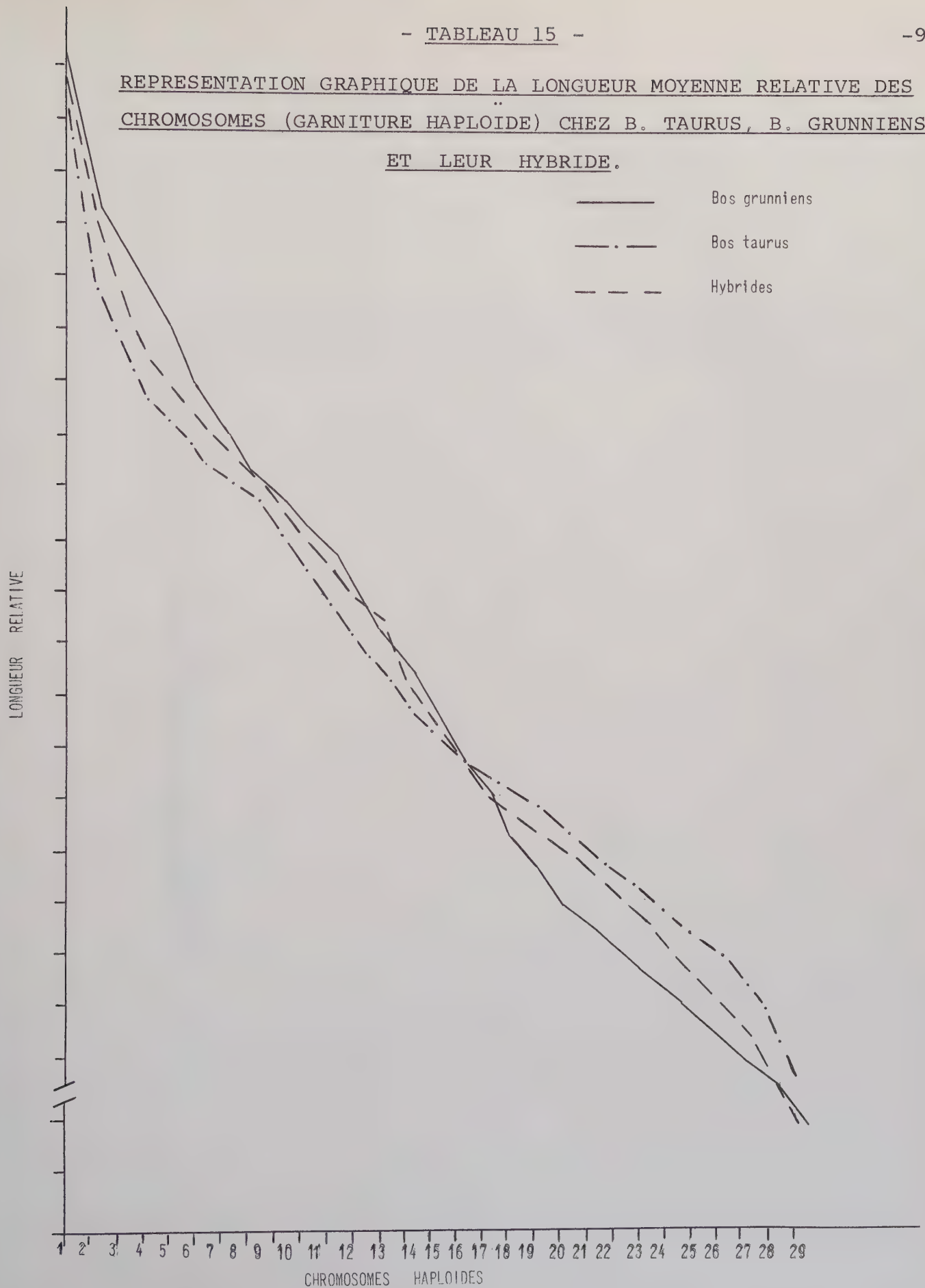
La représentation graphique des idiogrammes de *Bos taurus*, *Bos grunniens* ♂ et des hybrides (♀ et ♂) met en évidence le fait que les premiers 16 chromosomes de la garniture haploïde de *Bos grunniens* sont plus grands que chez *Bos taurus* et inversement les chromosomes 16 -29 sont plus grands chez *Bos taurus*. (Tableau 15). Quant aux hybrides, la ligne de leur idiogramme suit à quelques exceptions près, une position intermédiaire entre celles des idiogrammes des espèces parentales. Le point de croisement des lignées parentales, le chromosome n° 16, est aussi commun pour les hybrides.

Le test de Tukey appliqué aux idiogrammes de *Bos grunniens* et des hybrides, reflète certaines différences entre les chromosomes de ces deux espèces. Le calcul de W a été fait, ainsi que pour l'idiogramme de *Bos taurus*, sur les moyennes des longueurs relatives des chromosomes haploïdes (Tableaux 16, 17).

Chez le yak, le nombre de chromosomes voisins, entre lesquels il n'y a pas de différences significatives est plus petit que chez *Bos taurus* ; 2 ou 3 chromosomes successifs, rarement 4.

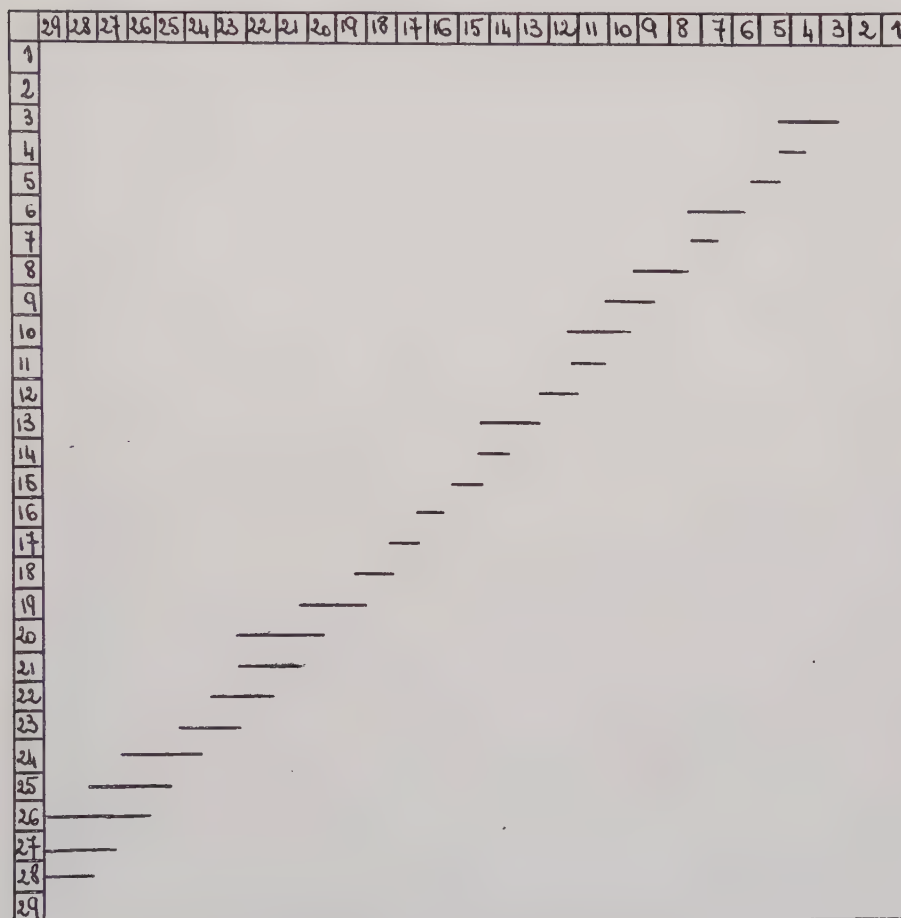
Chez les hybrides, ces limites sont encore plus petites que chez les deux espèces. Par l'application du même test, nous avons trouvé chez le boeuf, un seul chromosome, le plus grand du complément, significativement différent de tous les autres (tableau 6). Chez le yak les deux premiers, et chez les hybrides les trois premiers sont significativement différents des autres et peuvent être désignés avec certitude dans la série décroissante (tableaux 16 et 17).

REPRESENTATION GRAPHIQUE DE LA LONGUEUR MOYENNE RELATIVE DES
CHROMOSOMES (GARNITURE HAPLOIDE) CHEZ B. TAURUS, B. GRUNNIENS
ET LEUR HYBRIDE.



- TABLEAU 16 -

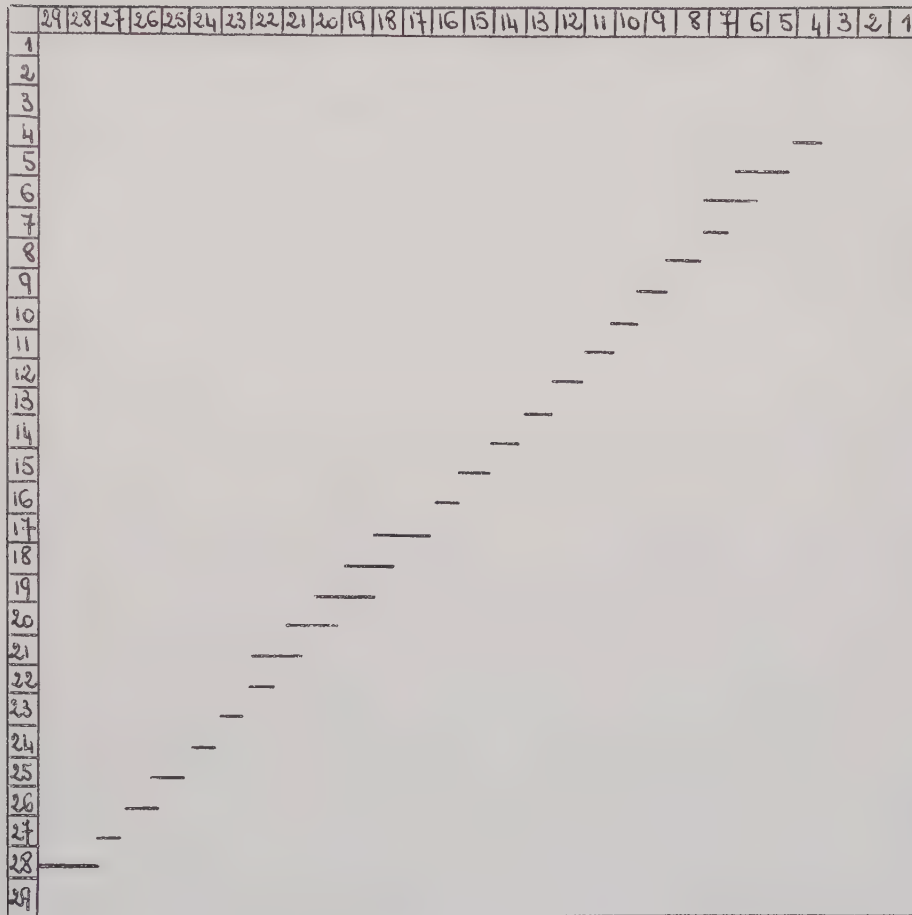
Test de Tukey appliqué aux moyennes de l'idiogramme
de Bos grunniens $W_{\alpha = 0,01} = 2,62$



Deux moyennes unies par le même trait ne sont pas significativement différentes. S'il n'y a pas de liaison entre elles, elles sont significativement différentes.

- TABLEAU 17 -

TEST DE TUKEY



Test de Tukey appliqué aux moyennes de l'idiogramme
de l'hybride

$$W_{\alpha=0,01} = 2,06$$

Les chromosomes sexuels du yak ressemblent beaucoup à ceux du boeuf, du point de vue de la taille et de la morphologie. En effet, les chromosomes X, comme chez le boeuf, ont la taille du premier grand autosome et le chromosome Y se place dans l'idiogramme, parmi les plus petits autosomes. Selon l'index centromérique (tableau 18) les chromosomes X ainsi que l'Y sont des sousmétacentriques. Comme chez le boeuf, les erreurs standard de la moyenne des chromosomes sexuels du yak présentent des valeurs plus grandes que celles des autosomes. Les deux chromosomes X chez la femelle de yak et des hybrides n'ont pas les mêmes valeurs ; chez les femelles hybrides la différence entre leur taille est très significative ($P < 0,001$).

Une comparaison par l'analyse de la variance entre le chromosome X le plus grand des femelles hybrides et le plus grand X du *Bos taurus*, ne montre pas de différence significative. De même, il n'y a pas de différence significative entre le chromosome X le plus petit du yak et l'X, le plus petit des hybrides. Au contraire, il y a des différences significatives ($P < 0,05$) entre le chromosome X le plus petit de *Bos taurus* et le plus petit X des hybrides. Ces résultats confirment que chez la femelle hybride les deux chromosomes X viennent, pour chacun de l'une des espèces parentales.

° ° °

En 1922, HALDANE affirmait que dans un croisement interspécifique, le sexe touché par la stérilité est toujours le sexe hétérogamétique, chez les mammifères, particulièrement, le sexe mâle. Les hybrides entre *Bos taurus* et des espèces voisines, vérifient, encore une fois la véracité de cette règle.

- TABLEAU 18 -

VALEURS DE LA LONGUEUR MOYENNE DES CHROMOSOMES SEXUELS CHEZ LE YAK ET

LES HYBRIDES

Chromosomes sexuels	Bos grunniens						hybrides					
	σ			ϕ			σ			ϕ		
	$\bar{X}$	$E_{\bar{X}}$	C.I.	$\bar{X}$	$E_{\bar{X}}$	C.I.	$\bar{X}$	$E_{\bar{X}}$	C.I.	$\bar{X}$	$E_{\bar{X}}$	C.I.
Chromosome X_1	54,31	1,86	0,32	53,89	1,12	0,35	58,37	1,52	0,33	58,36	1,43	0,33
Chromosome X_2	-	-	-	49,56	1,91	0,33	-	-	-	53,41	1,26	0,34
Chromosome Y	25,34	1,57	0,38	-	-	-	22,25	0,94	0,39	-	-	-

$\bar{X}$ - Moyenne

$E_{\bar{X}}$ - Erreur standard

C.I. - Index centromérique

L'hybride mâle *Bos taurus* x *Bison bison* étudié par BASRUR (1969) ayant 31 % de parenté bison était complètement stérile, par absence totale de spermatogénèse. Les images des coupes histologiques mettent en évidence les mêmes caractéristiques chez les hybrides *Bos grunniens* x *Bos taurus* : le développement excessif du tissu interstitiel, la prédominance des cellules de SERTOLI dans les tubes séminifères, et l'absence totale des divisions. Chez les hybrides ayant une parenté boeuf plus élevée, la spermatogénèse semblait se dérouler normalement jusqu'à un certain stade. L'absence des spermatozoïdes viables et la présence des spermatophages indique qu'ils étaient détruits, avant d'arriver dans les canaux de l'épididyme.

Pour les espèces qui présentent de grosses différences chromosomiques, la stérilité de leurs hybrides peut être attribuée aux difficultés d'appariement des autosomes, pendant la division méiotique (BENIRSCHKE et coll. 1962, TRUJILLO et coll. 1962, SASAKI et MAKINO, 1962, LAY et NADLER, 1969). Pour les espèces qui possèdent des caryotypes identiques ou presque, l'explication est plus difficile.

Dans la nature, l'hybridation interspécifique apparaît rarement ; presque tous les hybrides connus entre différentes espèces de mammifères, ont été obtenus dans des conditions artificielles (GRAY, 1954). MEYR (1963) a décrit plusieurs mécanismes intervenant dans l'isolement des espèces.

Une première catégorie est constituée par ceux qui empêchent l'accouplement : l'isolement géographique, les différences ethologiques ou les facteurs mécaniques. Si toutefois

l'accouplement des deux individus appartenant à des espèces différentes a eu lieu, une autre catégorie de facteurs interviennent pour limiter les conséquences : la mortalité embryonnaire, la viabilité réduite et la stérilité plus ou moins accentuée des hybrides.

Dans le cas des hybrides issus des croisements dirigés, comme les hybrides bovins où les premiers facteurs sont supprimés par l'intervention de l'homme, la stérilité des hybrides garde un rôle important, en tant que mécanisme d'isolement.

Le fait que la stérilité des hybrides touche spécialement le sexe hétérogamétique, donc les mâles chez les mammifères, semble implicitement lié à la présence des deux chromosomes sexuels différents. Pour deux espèces aux autosomes identiques du point de vue nombre et morphologie, l'identité du chromosome Y semble jouer un rôle important mais non exclusif pour la fertilité de leurs hybrides.

La preuve en est que l'hybride mâle *Bos indicus* x *Bos taurus* est fertile bien que les deux espèces aient un chromosome Y différent du point de vue morphologique, tandis que l'hybride *Bos grunniens* x *Bos taurus*, malgré l'identité du chromosome Y, est stérile. Le cas est le même pour l'hybride *Bison bison* x *Bison bonassus*, entre des espèces qui ont, elles aussi, un chromosome Y différent. Selon GRAY, 1954 et HECK (1968) cités par BASRUR (1969) cet hybride serait non seulement fertile, mais aurait une vigueur supérieure aux parents.

A part les différences des caryotypes, la stérilité des hybrides pourrait être provoquée par les divergences au niveau

génique. En plus, certains auteurs (PETERS, 1964, BASRUR, 1969) accordent un rôle important au cytoplasme dans ce phénomène : incompatibilité cytoplasmique des deux gamètes ou celle qui existerait entre le cytoplasme d'un gamète et le complexe nucléaire de l'autre. PETERS (1964) affirme que dans le croisement Bison bison x Bos taurus, au moins deux back-crosses seraient nécessaires pour éliminer ou atténuer cette incompatibilité.

KIEFFER et CARTWRIGHT (1968) affirment qu'en raison des similitudes de caryotypes et de l'infertilité, le maintien des deux espèces distinctes Bos taurus et Bos indicus n'est plus justifié. En effet, une révision de la systématique des bovins serait souhaitable. Les modifications éventuelles devraient tenir compte des connaissances acquises ces dernières années sur le plan chromosomique.

°
° °

La sous famille Bovinae présente une remarquable homogénéité du caryotype. Les espèces appartenant à neuf genres, les mieux connus du point de vue chromosomique, possèdent généralement un nombre de chromosomes qui varie peu autour de 60. Le type de chromosome le plus commun est le type acrocentrique. A quelques exceptions près, le nombre fondamental (N.F. MATTHEY, 1954) chez les bovins varie seulement entre 58 et 62, y compris pour les espèces qui s'écartent du nombre chromosomique de 60, par exemple Tragelaphus spekei - $2n = 30$ (WÜRSTER et NOELKE, 1968). Une seule espèce constitue une vraie exception, Tetracerus quadricornis, par le nombre de ses chromosomes (38) ainsi que son N.F. (36) (WÜRSTER et BENIRSCHKE, 1967).

Quant au genre *Bos*, le nombre chromosomique varie encore moins : à l'exclusion de *Bos taurus* qui a 58 chromosomes (HECK et coll., 1968), toutes les autres espèces possèdent 60 chromosomes et un N.F. de 62.

Cette faible variation indique que les caryotypes de ces espèces ont subi très peu de modifications. Pour les espèces qui présentent un nombre inférieur à 60 mais un nombre fondamental caractéristique pour les bovins, la fusion de type Robertsonian serait le seul mécanisme qui pourrait être à l'origine des modifications intervenues.

Deux espèces ayant des caryotypes totalement différents peuvent être considérées comme éloignées du point de vue phylogénique. Deux espèces ayant des caryotypes semblables ne sont pas obligatoirement apparentées.

Cette similitude indique plutôt que leurs caryotypes ont subi très peu de modifications et qu'ils sont relativement stables. Mais, si entre ces deux espèces il existe une interfertilité parfaite, comme c'est le cas de *Bos taurus* et *Bos indicus*, la condition majeure qui caractérise une espèce est mise en question. L'existence du genre *Bison* serait aussi à revoir. Le yak appartenait auparavant, lui aussi, à un genre distinct, *Poephagus*. Dans une classification récente, que nous avons adoptée (MORRIS, 1965), il est considéré comme une espèce du genre *Bos*.

- CHAPITRE VI -

LE CARYOTYPE DES BOVINS "CULARDS"

Le caractère culard est une anomalie héréditaire de l'espèce bovine connue dans plusieurs races, parmi lesquelles, la race Charolaise. L'hypertrophie musculaire est la manifestation la plus visible de cette anomalie.

Le caractère culard semble avoir un déterminisme génétique avec une expressivité variable. Cette expressivité variable ainsi que la pénétrance incomplète peuvent être interprétées par l'évolution de la dominance ; dans les races à viande, sous l'influence de la sélection artificielle, ce caractère récessif tendrait à devenir dominant (LAUVERGNE, VISSAC, PERRAMON, 1963).

Des études effectuées pour déterminer l'origine de l'hypertrophie musculaire chez le culard (OUHAYOUN et coll. 1964; OUHAYOUN et BEAUMONT, 1968) ont permis de constater que cette hypertrophie était probablement liée à une multiplication plus accentuée des fibres musculaires.

Nous avons pu étudier du point de vue chromosomique trois animaux culards, trois animaux charolais et deux animaux phénotypiquement normaux, provenant d'une mère cularde et d'un père normal (Ces animaux étaient représentatifs de la descendance obtenue à la suite de tels accouplements).

Les préparations chromosomiques ont été réalisées à partir de sang entier selon la technique de GROUCHY et coll. (1964) modifiée (POPESCU, 1968). Les métaphases ayant une disper-

sion suffisante pour permettre un comptage, ont été étudiées au microscope et sur photos. Pour chaque animal, le plus grand nombre possible de métaphases a été analysé.

La plupart des cellules ont 60 chromosomes (Tableau 18). Nous n'avons pas trouvé de délétions ou de translocations constantes. Le faible pourcentage de cellules ayant moins de 60 chromosomes est dû à des artefacts techniques. Comme nous avons noté dans le chapitre traitant des chromosomes somatiques, un idiogramme des cellules provenant des animaux charolais ne montre pas de différences par rapport à une autre race bovine. Par contre, dans les préparations chromosomiques des charolais normaux et culards, nous avons trouvé un pourcentage assez important de cellules hyperploïdes (POPESCU, 1968). Chez tous les animaux étudiés, quel que soit leur type génétique, le nombre de cellules polyploïdes est bien plus élevé (Tableau 19). Pour les animaux normaux ce nombre se situe entre 4 et 10 % ; pour les animaux hétérozygotes, il varie de 11 à 14 % ; quant aux culards, il varie de 17 à 24 %. Les cellules polyploïdes étaient en majorité des tétraploïdes, mais le degré de polyploïdie allait jusqu'à l'hexaploïdie ou même jusqu'à la decaploïdie (Fig. 10).

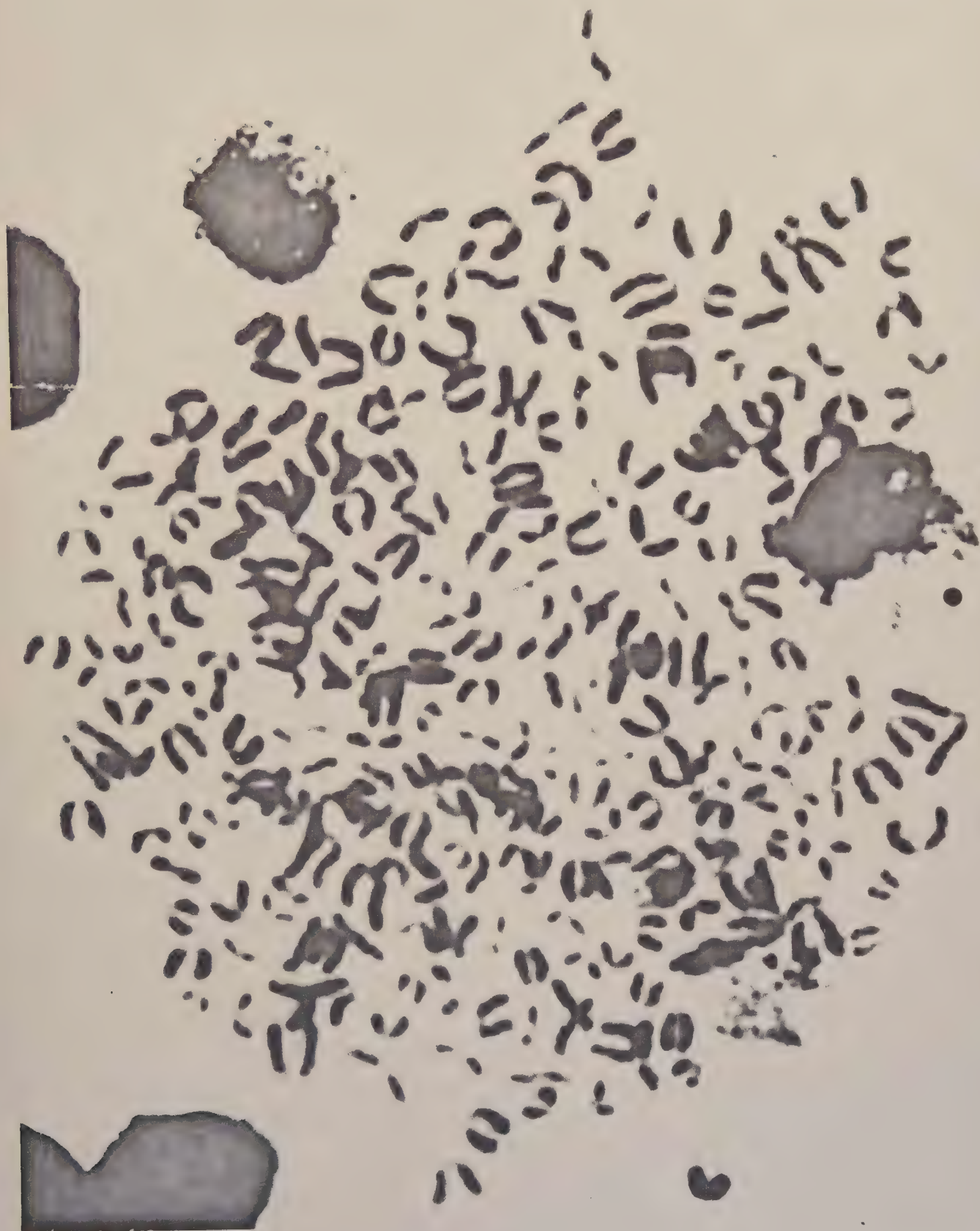


FIG. 10 - Cellule décaploïde. Sang périphérique de culard.

- TABLEAU 19 -

EFFECTIFS DE CELLULES DIPLOIDES & HYPERDIPLOIDES

N°	Type génétique	Sexe	Cellules à 60 chromosomes	Cellules polyploïdes	%
1	Culard	♀	530	131	24,7
2	Culard	♂	112	18	16,00
3	Culard	♀	160	28	17,5
4	♂ normal ♀ culard	♂	107	12	11,2
5	♂ normal ♀ culard	♂	42	6	14,2
6	normal	♂	54	6	11,0
7	normal	♂	408	18	4,4
8	normal	♂	217	11	5,1

Selon BELL et BACKER (1965) la présence des cellules polyploïdes est un phénomène commun dans les cultures de cellules à long terme. Dans les cultures à court terme comme dans le cas de cultures de leucocytes humains, le pourcentage des cellules polyploïdes est inférieur à 1 %.

Chez les bovins le taux de polyploïdie trouvé par différents auteurs est très variable. HERSCHLER et coll. (1962) trouvent dans les cultures de leucocytes un pourcentage qui varie entre 4 et 20% suivant l'animal. KOULISCHER et coll. (1967) notent une fréquence d'environ 5 % de cellules polyploïdes. Selon KIEFFER et CARTWRIGHT (1967) les cellules polyploïdes sont plus nombreuses dans les cultures de leucocytes que dans les préparations directes de la moelle osseuse. Ces auteurs pensent que la polyploïdie pourrait être provoquée par certaines conditions physiologiques. ZARTMAN et FECHHEIMER (1967) trouvent sur un nombre important d'animaux Herefords purs et consanguins, un taux général de 7,2 % de polyploïdie. Chez un taureau Herefords, ils remarquent un taux plus élevé, 17 %, mais généralement ils affirment l'existence d'une grande variation individuelle, concernant les cellules polyploïdes et une influence héréditaire vers un certain type d'abérations mitotiques.

DARRE et coll. (1970) trouvent chez un veau nain 15,51 % de cellules polyploïdes dans une première observation et 11,01 %, 3 mois plus tard. Chez la mère de cet animal le taux de polyploïdie était de 3 %, significativement différent de celui trouvé chez le veau. Les mêmes auteurs affirment avoir trouvé entre 10 et 19 % de cellules polyploïdes chez des bovins culards, ayant le caractère exprimé à des degrés différents.

Ces résultats joints aux observations d'OUHAYOUN et coll. (1964 et 1968) sur la multiplication des myoblastes chez les culards, montre la nécessité de recherches plus approfondies sur la division cellulaire des bovins qui portent ce caractère. Dans un modèle de la division cellulaire proposé par GILLOIS (1969) on suppose l'existence de deux groupes de gènes intervenant

de façon ordonnée dans ce processus. Le premier groupe régit le mouvement des chromosomes, le deuxième régit les synthèses des membranes et les séparations des cytoplasmes. A l'aide de ce modèle on pourrait expliquer la formation des cellules polyploïdes : le passage d'une cellule musculaire mononucléaire à des cellules polynucléaires pourrait être retardé parce qu'une mutation au niveau de l'un des gènes du second ensemble rendrait moins efficace l'effet du "réducteur" conduisant ainsi à des cellules polyploïdes.

Une étude plus approfondie sur une souche établie et des cultures primaires à partir d'un tissu de culard, pourrait contribuer à une meilleure connaissance de ce caractère.

Ces troubles de la division cellulaire devraient être également étudiés au niveau des divers tissus et notamment des glandes sexuelles. Leur incidence sur la fertilité des reproducteurs et sur la viabilité des embryons obtenus, tant avec des animaux normaux qu'avec des culards, peut ne pas être négligeable, étant donné les fréquences rapportées dans l'étude au niveau de lymphocytes.

Aussi est-il possible que le taux élevé de polyploïdie chez les culards soit plutôt un caractère de la race, ou bien l'effet d'un état physiologique particulier.

Une étude portée sur un nombre important d'animaux et sur plusieurs tissus, pourrait mieux nous renseigner sur ce problème.

- CHAPITRE VII -

LE RAPPORT X/AUTOSOMES CHEZ LE BOS TAURUS ET QUELQUES ESPECES
VOISINES

L'essor des études cytogénétiques pendant la dernière décennie, dû en particulier au développement des techniques d'investigation, a permis la connaissance du caryotype d'un grand nombre d'espèces actuelles.

Plusieurs mécanismes de remaniement ont été décrits pour expliquer l'évolution du caryotype ainsi que le rôle des modifications chromosomiques dans le processus de spéciation. Une certaine tendance à exagérer le rôle des modifications chromosomiques dans la spéciation, est actuellement combattue. En effet, une modification chromosomique n'entraîne pas obligatoirement une spéciation et la spéciation ne passe pas toujours par un changement chromosomique. Les nouveaux arrangements chromosomiques constituent une voie, parmi plusieurs autres, qui peut mener à la formation d'une nouvelle espèce, en liaison avec tous les facteurs qui conditionnent son existence (MEYR, 1969).

Les mammifères placentaires actuels présentent une diversité remarquable du caryotype aussi bien dans le nombre que dans la forme de leurs chromosomes. Malgré cette diversité, il semble que la masse totale du matériel génétique contenu dans leur complément chromosomique diploïde soit à peu près la même dans toutes les espèces (OHNO et al., 1964). Les remaniements de structure du type Robertsonien ou autre, intervenus au cours de leur évolution, se sont déroulés sans entraîner une perte importante de matériel génétique, mais seulement en modifiant la

disposition des groupes de linkage existants dans le génôme de leur ancêtre commun. La duplication génique semble avoir joué un rôle beaucoup plus important dans la spéciation (OHNO et coll., 1968, OHNO, 1970). En effet, un gène contrôlant un caractère important qui se trouve en plusieurs doses est plus susceptible de mutation qu'un gène unique sur lequel la sélection naturelle s'exerce par l'élimination de toute mutation qui mettrait en danger le caractère contrôlé. L'ancêtre commun des mammifères actuels avait déjà acquis un surdosage génique et les changements ultérieurs intervenus dans l'évolution de chaque espèce ont modifié l'arrangement des groupes de linkage originaires sur leurs chromosomes tout en gardant la quantité initiale du matériel génétique. MANDEL et coll. (1950) ont trouvé dans chaque noyau diploïde chez l'homme, le boeuf, le mouton, le porc et le chien, une quantité d'ADN équivalente à $7,0 \times 10^{-9}$ mg. OHNO et coll. (1968) ont confirmé ces résultats chez l'homme et le chien et trouvé la même quantité chez un petit rongeur, *Microtus oregoni* ($2n = 18$).

Dans la diversité chromosomique des mammifères, les chromosomes sexuels obéissent à des règles particulières. Le chromosome Y est, chez presque tous les mammifères, l'un des plus petits éléments du complément diploïde. Le chromosome X est, à quelques exceptions près, l'un des plus grands sinon le plus grand. Des études faites par OHNO et coll. (1964) ont montré que chez les mammifères, ce chromosome représente environ 5 % du complément haploïde (autosomes plus un chromosome X). Ils ont désigné par "type originel" ce type de chromosome X.

Un chromosome X deux fois plus grand par rapport aux autosomes, représentant 10 % du complément haploïde, a été décrit chez plusieurs espèces de rongeurs ainsi qu'un X tripliqué (15 %

du complément haploïde) chez *Microtus oregoni* (OHNO et al., 1964) WOLF et coll. (1965) ont trouvé un chromosome X quadruplé, quatre fois plus grand que l'X de type originel (20 % du complément haploïde) chez *Microtus agrestis*.

Il est également admis que les Ruminants possèdent un chromosome X représentant environ 5 % du complément haploïde et appartiennent donc au type originel. Pourtant, on a décrit récemment chez une espèce de Ruminants un chromosome X de type dupliqué (*Rangifer tarandus* L., FRACCARO et al., 1968) et chez deux autres espèces, *Tragelaphus spekei* et *Antilope cervicapre*, un chromosome X de type tripliqué (WURSTER et coll., 1968).

Les auteurs qui ont mis en évidence l'existence de plusieurs types de chromosomes X chez les mammifères avaient utilisé une méthode de mesure bidimensionnelle (OHNO et coll., 1964). Ils ont calculé les aires en pesant, à l'aide d'une balance de précision, les images chromosomiques dessinées sur un papier spécial et en appliquant une correspondance entre le poids et la superficie.

Nous avons étudié le rapport X/autosomes chez le boeuf et quelques autres espèces domestiques, en utilisant une méthode de mesure unidimensionnelle. A part le boeuf, le yak et leurs hybrides dont l'identification du chromosome X est certaine, nous avons choisi une espèce, *Ovis aries*, dont le chromosome X est difficilement identifiable.

Les mesures ont été pratiquées sur les meilleures métaphases ayant des chromosomes bien étalés, sans chevauchement, avec les deux chromatides individualisées et un degré de spiralisation semblable. Sur les photographies agrandies 6 fois

(grossissement total 6 000 X), les extrémités de chaque chromatide et du centromère ont été soigneusement marquées. Les deux chromatides de chaque chromosome ont été mesurées à l'aide d'un compas et d'une échelle micrométrique avec une précision de 0,1 mm. La longueur de chaque chromosome est évaluée par la moyenne des deux chromatides. La longueur totale du complément haploïde est constituée par la somme des moyennes des deux chromosomes de chaque paire autosomique, plus un chromosome X. Ensuite, ont été calculées les moyennes des longueurs du chromosome X. Finalement on a obtenu le rapport entre le chromosome X et le complément haploïde (X/AX) et calculé les erreurs standard de la moyenne pour chaque nombre du rapport (Tableau 20).

OHNO et coll. (1964) ont trouvé chez *Bos taurus*, en utilisant la méthode des mesures bidimensionnelles, un rapport X/AX égal à 5,60 %. Malgré le manque de finesse des mesures unidimensionnelles, qui négligent la largeur des chromatides (de l'ordre de 0,5 environ pour les chromosomes de *Bos taurus*) nous avons trouvé pour cette espèce, un rapport égal à 5,61 %, très proche de la valeur obtenue par la mesure des aires (Tableau 20). Chez *Bos grunniens* le rapport X/AX est de 5,38 %, et chez l'hybride *Bos grunniens* x *Bos taurus*, malgré les longueurs réelles deux fois plus grandes de ces chromosomes par rapport aux espèces parentales, sa valeur est de même ordre.

Chez *Ovis aries*, le chromosome X n'est pas identifiable avec certitude. En accord avec plusieurs auteurs (BRUERE et McLAREN, 1967, Mc FEE et coll., 1965), nous avons considéré le plus grand acrocentrique comme étant l'X. Le rapport X/AX chez *Ovis aries* présente une valeur plus petite que chez les autres

LES LONGUEURS MOYENNES ET LE RAPPORT X/AUTOSOMES CHEZ LE
BOEUF ET QUELQUES ESPECES VOISINES

Espèce	Nombre d'exemplaires étudiés	Nombre de cellules étudiées	Longueur moyenne du complément haploïde AX	Erreur standard $E_{\bar{X}}$	Longueur moyenne du chromosome X	Erreur standard $E_{\bar{X}}$	X/AX
Bos taurus	2 ♀ 2 ♂	10 ♀ 10 ♂	221,9	+ - 10,3	12,46	+ - 0,49	5,61
Bos grunniens	1 ♀ 1 ♂	5 ♀ 2 ♂	265,4	+ - 22,17	14,2	+ - 0,72	5,38
Bos grunniens x Bos taurus	2 ♀ 1 ♂	10 ♀ 5 ♂	443,8	+ - 12,4	24,13	+ - 1,40	5,44
Ovis aries	1 ♀ 1 ♂	5 ♀ 5 ♂	285,2	+ - 9,98	14,1	+ - 0,50	4,94

espèces (4,94 %) ce qui pourrait être dû à l'incertitude de l'identification de l'X.

Le rapport X/AX présenté par toutes ces espèces se situe aux environs de 5 %, ce qui les apparente au type de chromosome X originel.

Comme pour toutes les espèces possédant un chromosome X de ce type, le phénomène d'hétérochromatinisation dans les cellules somatiques femelles touche le deuxième X entier. Si l'hétérochromatine est un matériel réellement inerte du point de vue génétique alors un seul chromosome X qui reste euchromatique, représentant 5 % environ du complément haploïde, serait nécessaire et suffisant pour assurer un développement normal du sexe homogamétique.

OHNO et coll. (1964) ont montré que chez les espèces qui présentent un chromosome X plus grand que le type originel, toute la quantité en excès, dans les cellules somatiques femelles, deviendrait hétéropycnotique. Dans le cas d'un X dupliqué ce phénomène touche le deuxième X entièrement et la moitié du premier et dans le cas d'un X tripliqué, un X entier et deux tiers de l'autre, de telle façon que la quantité euchromatique du chromosome X reste toujours égale à 5 % du complément haploïde et donc au type d'X original. L'inactivation devient évidente dans les cellules marquées à la thymidine H^3 par un retard dans la synthèse de l'ADN manifesté par le chromosome X par rapport aux autosomes.

L'inactivation par la transformation en hétérochromatine de l'un des chromosomes X chez la femelle de mammifères est

considéré comme un mécanisme de compensation de dose entre les deux sexes pour tous les gènes liés au chromosome X. Il annule l'effet des gènes qui se trouvent en dose double dans le sexe homogamétique.

Selon la théorie de LYON (1961) l'inactivation porte au hasard sur l'un ou l'autre des chromosomes X, dès les premiers stades du développement embryonnaire de la femelle et en fait une mosaïque de deux populations distinctes de cellules somatiques.

CARATZALI et coll. (1968) affirment que l'inactivation a non seulement un rôle de mécanisme compensateur de dose mais aussi un rôle protecteur par l'inactivation d'une façon préférentielle d'un chromosome X anormal.

L'apparition de ce phénomène chez les mammifères est explicable par l'évolution différente du chromosome X par rapport à l'Y, les deux étant originaires d'une même paire autosomique. (OHNO et coll., 1964). Le chromosome Y a subi dans son évolution une réduction considérable de sa taille, éliminant par des délétions successives presque tous les gènes autosomaux. Le chromosome X, lui, ayant des gènes liés au sexe éparpillés sur toute sa longueur, a subi peu de modifications. Chez la plupart des mammifères actuels, il a gardé sa taille originelle et même certains groupes de linkage ancestraux.

- RECAPITULATION ET CONCLUSIONS -

L'intérêt des recherches cytogénétiques chez les bovins se situe surtout dans le domaine pratique : du fait de l'insémination artificielle les maladies par aberrations chromosomiques risquent d'être propagées dans un grand nombre de descendants.

Les méthodes techniques qui peuvent être utilisées dans la cytogénétique des bovins sont généralement les mêmes que pour les autres mammifères et les humains. Nous avons cependant remarqué certaines difficultés dues à des caractères spécifiques des bovins. Notamment les cultures de leucocytes qui donnent toujours satisfaction chez l'homme, sont plus difficiles à réaliser chez les bovins, en raison de la vitesse de sédimentation des hématies extrêmement lentes dans cette espèce. Elles restent toutefois la méthode la plus indiquée pour une enquête systématique à grande échelle.

La culture de tissu ou les cultures primaires sont recommandées pour l'étude de cas spéciaux et pour confirmation d'une anomalie relevée dans les lymphocytes.

Généralement, toutes les techniques basées sur des cultures de cellules de longue ou courte durée, sont rendues plus difficiles chez les animaux domestiques du fait des difficultés d'obtention du matériel et des mauvaises conditions de stérilité existant au moment des prélèvements.

Les chromosomes somatiques du boeuf sont au nombre de 60 ; les autosomes sont tous acrocentriques et les deux chromosomes sexuels, submétacentriques.

Le caryotype d'une cellule bovine se présente sous la forme d'une série décroissante suivant la taille des chromosomes. Du fait de la position terminale du centromère de tous les autosomes, aucune classification en groupes n'est possible. Un idiogramme de référence, universellement adopté s'impose d'autant plus. Les deux idiogrammes réalisés, basés sur un nombre différent de cellules mesurées, montrent la possibilité de réaliser un idiogramme standard de cette espèce et son utilité dans l'étude des anomalies.

Dans les cellules spermatogoniales du taureau ont été mis en évidence deux types de divisions correspondant aux types principaux de spermatogonies.

Nous avons remarqué une fréquence assez élevée de cellules spermatogoniales anormales, fait déjà observé chez plusieurs autres espèces animales et chez l'homme. Leur rôle pourrait ne pas être négligeable dans la production des spermatozoïdes anormaux.

La méïose suit les étapes normalement rencontrées chez les mammifères. Les stades les plus longs d'après leurs fréquences sont le pachytène et la diacinèse. Les chromosomes sexuels montrent un comportement différent des autosomes : dès le stade leptotène jusqu'à la diacinèse ils sont enfermés dans la vésicule sexuelle et présentent un état hétérochromatique positif.

A la diacinèse et à la métaphase II nous avons trouvé tous les types connus de chiasmas. Il semble donc que les chromosomes acrocentriques ne soient pas limités à un certain type de chiasma, mais qu'ils puissent réaliser, comme les métacentriques, tous les types possible. La fréquence moyenne des chiasmas par cellules a été de 53,73. Le type le plus fréquent est le chiasma terminal. Le coefficient de terminalisation est de 0,61 pour cette espèce. Nous avons considéré les chiasmas ouverts d'un côté comme l'achèvement du processus de terminalisation et le début de la séparation des univalents.

La liaison entre les deux chromosomes sexuels à la diacinèse et en métaphase est de type bout-à-bout. Nous avons cependant observé certaines cellules dans un stade diplotène précoce où les deux chromosomes n'étaient pas associés bout-à-bout, mais par plusieurs points de contact et il ne serait pas exclu qu'une liaison plus intime ait lieu précocement, par rapport aux autosomes. La fréquence relativement importante de cellules dans lesquelles les deux chromosomes se trouvent en métaphase II à l'état d'univalent, pourrait alors constituer un argument en faveur de l'existence de cette liaison.

Mais nous pensons que pour élucider le problème de l'association des chromosomes sexuels dans la méiose mâle, et implicitement, le problème de l'existence ou de l'absence d'un crossing-over entre eux, les preuves cytologiques ne suffisent pas et qu'il faudrait les corroborer avec des preuves génétiques.

L'analyse comparative des chromosomes du boeuf et du yak montre que les deux espèces se ressemblent beaucoup en ce qui concerne le nombre et la morphologie des chromosomes. Une étude

plus approfondie à l'aide des mesures révèle que, malgré les similitudes apparentes, leurs idiogrammes ne sont pas tout à fait identiques. Quant aux hybrides, leur idiogramme représente une moyenne des idiogrammes des espèces parentales.

Dans le cas de l'hybride *Bos grunniens* x *Bos taurus*, les différences minimales trouvées entre les caryotypes des espèces parentales, ne peuvent pas être invoquées pour expliquer la stérilité des mâles. Il faudrait tenir compte de certaines divergences au niveau génique ainsi que d'une éventuelle incompatibilité cytoplasmique.

Dans une révision de la systématique des bovins, il est nécessaire de prendre en considération les résultats acquis sur le plan chromosomique et des études sur les hybrides obtenus entre différentes espèces de cette famille.

Le caryotype des bovins charolais culards ne présente pas de différences par rapport aux animaux normaux quant à la forme et au nombre des chromosomes des cellules diploïdes. Mais chez les animaux culards a été trouvé un taux assez élevé de cellules polyploïdes. Cette anomalie pourrait être expliquée par une perturbation au niveau de la division cellulaire qui pourrait être à l'origine de l'hypertrophie musculaire. Mais, pour préciser s'il s'agit d'une telle anomalie et si cette anomalie touche les animaux culards ou bien, caractérise plutôt une certaine race, il faudrait étudier le phénomène sur un grand nombre d'animaux et sur plusieurs tissus.

Le rapport entre les dimensions du chromosome X et le complément haploïde chez le boeuf, le yak, leur hybride et le mouton, se situe aux environs de 5 %. Ce résultat, pour le boeuf est en accord avec les résultats d'OHNO et classe ces animaux parmi les espèces qui possèdent un chromosome X de "type originel". Cela montre que les bovins, à quelques exceptions près, ont gardé intact le long de leur évolution le chromosome X ancestral. Les changements survenus dans leur évolution, se sont exercés sur la morphologie des chromosomes mais ont maintenu la même quantité de matériel génétique ainsi que la taille du chromosome X.

Le fait que plusieurs gènes liés au chromosome X sont communs pour plusieurs espèces de mammifères et pour l'homme, constitue un autre argument en faveur de cette hypothèse et, de plus, montre que non seulement la taille du chromosome X est restée inaltérée, mais aussi, certains groupes de linkage ancestraux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ALTER A.A., LEE S.L., POURFAR M., DOBKIN G., 1962. Leucocytes alkaline phosphatase in mongolism : a possible chromosome marker. *J. Clin. Investig.* 41, 1341.
2. AMRUD J., 1969. Centric fusion of chromosomes in norwegian red cattle (N.R.F.). *Hereditas* 62, 293-302.
3. BATTAGLIA E., CENNI B., 1959. Contributo alla carilogi di Bos taurus L. *Caryologia* 12, 162-172.
4. BASRUR P.K., GILMAN J.P.W., 1964. Blood culture method for the study of bovine chromosomes. *Nature (Lond.)* 204, 1335-1336.
5. BASRUR P.K., MOON Y.S., 1967. Chromosomes of cattle, bison and their hybrid, the cattalos. *Am. J. Vet. Res.* 28, 1319-1325.
6. BASRUR P.K., 1969. Hybrid sterility in comparative Mammalian Cytogenetics. Ed. par K. BENIRSCKE. Spr. Verlag.
7. BECKMAN L., FICHTELIUS K.E., FINLEY W.H., LINDAHL-KIESSLING K., 1962. On the effect of mitogenic plant extracts (phytohaemagglutinin) on human with blood cells cultivated in vitro. *Hereditas* 48, 619-620.
8. BELL A.G., BAKER D.G., 1965, X-irradiation induced polyploidy in human leucocytes cultures. *Exp. Cell. Res.* 38, 144-152.
9. BENIRSCHKE K., BROWNHILL L.E., BEATH M.M., 1962. Somatic chromosomes of the Horse, the Donkey and their Hybrids, the Mule and the Hinny. *J. Reprod. Fertil* 4, 319-326.
10. BHAMBHANI R., KUSPIRA J., 1969. The somatic karyotypes of american bison and domestic cattle. *Can. J. Genet. Cytol.* 11, 243-249.
11. BIGGERS J.D., Mc FEELY R.A., 1963. A simple method for the display of chromosomes from cultures of white blood cells with special reference to the ox. *Nature (Lond)* 199, 718-719.

12. BOMSEL-HELMREICH, 1959. Méthode d'analyse du nombre de chromosomes dans les cellules germinales du bélier. Ann. Zootech. 8, 327-347.
13. BORLAND R., 1964. The chromosomes of domestic sheep. J. Hered. 55, 61-64.
14. BRANDT N.J., FROLAND A., MIKKELSEN M., NIELSEN A., TOLSTRUP H., 1963. Galactosaemia locus and the Down's syndrome chromosome. Lancet ii, 700-703.
15. BRIDGES C.B., 1921. Proof of non-disjunction for the fourth chromosomes of Drosophila melanogaster. Science 53, 308.
16. BRUERE A.N., Mc LAREN R.D., 1967. The idiogram of the sheep with particular reference to secondary constrictions. Canad. J. Genet. Cytol. 9, 543-553.
17. BRUERE A.N., MARSHALL R.B., WARD D.P.J., 1969. Testicular hypoplasia and XXY sex chromosome complement in two rams : the ovine counterpart of klinefelter's syndrome in man. J. Reprod. Fert. 19, 103-108.
18. BRUYERE P., LAGNEAN L.E., MEWISSEN D.J., 1965. Une méthode simplifiée de culture de sang périphérique pour l'étude des chromosomes chez divers animaux domestiques. C.R. des sceances de la Société de Biologie 159, 776.
19. BRUYERE P., 1966. Microméthode de culture et de marquage des cellules sanguines chez les animaux domestiques. Ann. Med. Vet. 110, 201-208.
20. CARATZALI A., STEFANESCU D.T., 1968. Conception sur divers mécanismes supposés de la meïose et détermination de quelques anomalies chromosomiques. J. Génét. Rum. 16, 107-118.
21. CHIARELLI B., DE CARLI L., NUZZO F., 1960. Analisi morfometrica dei chromosome di Bos taurus L. Caryologia 13, 766-772.

22. CLERMONT Y., 1966. Cinétique de la spermatogenèse chez les mammifères. In. La physiologie de la reproduction chez les mammifères. Paris 16-19 nov. 1966. Ed. du C.N.R.S. 1968 - Paris.
23. CROSSLEY R., CLARKE G., 1962. The application of tissue culture techniques to the chromosomal analysis of *Bos taurus*, Genet. Res. 3, 167-168.
24. DARRE R., QUEINNEC G., BERLAND H.M., 1970. Sur un cas de nanisme dans l'espèce bovine. Revue Med. Vet. 121, 115-126.
25. DERLOGEA, VETURIA, POPESCU C.P., GRANCIU I., 1967. Cercetari asupra cromosomilor la Yak (*Bos grunniens* L.) St. si cerc. biologie. Seria Zoologie, 19, 267-271.
26. DERLOGEA, VETURIA, HUSTIU C., POPESCU C., POPESCU CP., 1967. Unele particularitati ale hybrizilor *Bos grunniens* x *Bos taurus*. Lucr. St. ale Just. de Cerc. Zootech. XXV, 183-198.
27. EDWARDS J.H., HARNDEN D.C., CAMERON A.H., GROSSE V.M., WOLFF O.H., 1960. A new trisomic syndrome. Lancet, i, 787-789.
28. EVANS E.P., BRECTION G., FORD C.E., 1964. An air drying method for meiotic preparations from mammalian testes. Cytogenetics 3, 289-294.
29. EVANS H.J., 1965. A simple microtechnique for obtaining human chromosome preparations with some comments on DNA replication in sex chromosomes of the goat, cow and pig. Exp. Cell. Res. 38, 511-516.
30. FECHHEIMER N.S., 1961. Poikiloploidy among spermatogenic cells of *Mus musculus*. J. Reprod. Fertil. 2, 68-79.
31. FEDRIGO M., RUGIATI S., 1967. Micrometode per il rilievi del cariotipo dei leucociti di *Bos taurus* L. La Nuova Veterinaria An XLIII n. 1.
32. FLEMMING W.(von), 1898. Ueber des chromosomenzahl beim menschen. Anat. Anz. 14. Cité par TURPIN-LEJEUNE, 1965.

33. FORD E.H.R., WOOLLAM D.H.M., 1966. The fine structure of the sex vesicle and sex chromosome association in spermatocytes of mouse, golden hamster and field vole. *J. Anat.* 100, 787-799.
34. FORD C.E., HAMERTON J.L., 1956. The chromosomes of man. *Nature (Lond.)* 177, 140-141.
35. FORD C.E., JONES K.W., MILLER D.J., MITTWOCH U., PENROSE I.S., RIDLER M., SHAPIRO A., 1959. The chromosomes in a patient showing both mongolism and the klinefelter's syndrome. *Lancet* *i*, 709-710.
36. FORD C.E., 1962. Human chromosomes in : Chromosomes in Medicine Little club clinic. *Dev. Med.* 5 National Spastics Society and Heinemann Medical Books - London 1, 48-59.
37. FORD C.E., EVANS E.P., 1964. A reciprocal translocation in the mouse between the X chromosome and a short autosome. *Cytogenetics* 3, 295.
38. FORD C.E., 1969. Meiosis in Mammals in *Comparative Mammalian Cytogenetics* ed. por. K. BENIRSCHKE - Springer Verlag.
39. FRACCARO M., GUSTAVSSON I., HULTEN N., LINDSTEM M.J., TIEPOLO L., 1968. Chronology of DNA replication in the sex chromosome of the reindeer (*Rangifer tarandus* L.). *Cytogenetics* 7, 196.
40. FRANZ W., WIDMAIER R., 1960. Ein intersexuelles kernmorphologisch weibliches Pferd. *Berl. Münch. tierärztl Wschr.* 73, 341-345.
41. GERNEKE W.H., 1967. Cytogenetic investigations on normal and malformed animals with special reference to intersexes. *Onderstepoort. J. Vet. Res.* 34, 219-319.
42. GILLOIS M., 1969. La pseudo-sexualité des cellules somatiques en culture : modèle de l'induction des pseudo-meïoses. *Ann. Génét.* 12, 5 - 7.
43. GIMENEZ-MARTIN G., LOPEZ-SAEZ J.F., 1962. Dotaciones cromosómicas en los mamíferos domesticos. *Genet. Iber.* 14, 7-17.

44. GRAY P. ANNIE, 1954. Mammalian hybrids. A check-list with bibliographie. Commenwelth Agric. Bureaux. Farnham Royal, BUCKS - England.
45. Groupe d'Etude de DENVER, Avril 1960. Proposition d'un système standard de nomenclature des chromosomes mitotiques humains. Ann. de Génét. 2, 35-38.
46. GROUCHY J. DE, ROUBIN P., PASSAGE E., 1964. Microtechnique pour l'étude des chromosomes humains à partir d'une culture de leucocytes sanguins. Ann. Génét. 7, 45.
47. GROUCHY J. DE, LUMBROSO P., 1969. Fréquence élevée de spermatocytes primaires avec 2 N tétrades dans une biopsie testiculaire. Ann. Génét. 12, 65-66.
48. GROUCHY J. DE, BILL ARDON C., ROUBIN M., 1970. Etudes chromosomiques à partir de cultures cellulaires. Modifications techniques. Annls. Génét. 13, 141-143.
49. GUSTAVSSON I., 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in swedish cattle. Hereditas 63, 68-169.
50. HALDANE J.S.B, 1936. A search for incomplete sex-linkage in man. Ann. Eugen. 7, 28-54.
51. HAMERTON J.L., 1961. Sex chromatin and human chromosomes. Int. Rev. Cytol. 12, 1.
52. HANSEMAN D. (von), 1891. Uber pathologische Mitosen. Virch. Arch. 126, 356. Cité par TURPIN et LEJEUNE, 1965.
53. HECK H., 1968. Der Bison. A. Ziemsen Verlag Wittenberg. Hutherstadt.
54. HENRICSON E., " " BÄCKSTRÖM L., 1964. A systematic study of the meiotic divisions in normal and subfertile or sterile boars and bulls. J. Reprod. Ferhe, 7, 53-64.
55. HERSCHLER M.S., FECHHEIMER N.S., GILMORE L.O., 1962. Somatic chromosomes of cattle (Abstr.). J. Anim. Sci. 21, 972-973.

56. HOOFF L. van, 1919. La spermatogenèse dans les mammifères.
III. Les spermatocytes leptotènes et amphitènes dans
le taureau. Cellule 30, 7-26. (Cité par MAKINO, 1944),
57. HULOT FRANÇOISE, LAUVERGNE J.J., 1967. Les chromosomes des
ruminants. Ann. de Génét. 10, 86-97.
58. HULOT FRANÇOISE, 1969. Nouveau cas de fusion centrique chez
la chèvre domestique (*Capra hircus* L.). Ann. Génét.
Sél. Anim. 1, 175-176.
59. HULOT FRANÇOISE, 1969. Les chromosomes des Suiformes. Ann.
Génét. Sél. Anim. 1, 315-336.
60. HULOT FRANÇOISE, BASRUR P.K., 1969. La détermination du sexe
chromosomique dans l'étude de l'intersexualité
associée à l'absence de cornes chez la chèvre
d'origine alpine. Ann. Génét. Sél. Anim. 1, 383-390.
61. HULOT FRANÇOISE, POPESCU C.P., 1969. Deux cas d'intersexualité
chromosomique chez le mouton (*Ovis aries* L.) Ann.
Génét. Sél. Anim. 1, 9-13.
62. HULTEN M., LINDSTEN J., MING R.M.L., FRACCARO M., 1966. The
XY bivalent in human male meiosis. Ann. hum. Genet.
30, 119-121.
63. HULTEN M., ELIASSON R., TILLINGER K.G., 1970. Low chiasma
count and other meiotic irregularities in two infer-
tile 46 XY men with spermatogenic arrest. Hereditas
65, 285-290.
64. JONSSON G., GUSTAVSSON I., 1969. Blood cell chimerism in one
of three triplet lambs. J. Hered. 60, 175-179.
65. KEMP T., 1929. Über das verhalten der chromosomen in den
somatischen zellen des menschen. Zeits f. mikr.
Anat. Forsch. 16, 1. Cité par TURPIN et LEJEUNE,
1965.
66. KIEFFER M.N., CARTWRIGHT T.C., 1968. Sex chromosome polymor-
phisme in domestic cattle. The J. of. Hered. 59,
35-36.

67. KNUDSEN O., 1953. A karyological study of spermiogenesis in bulls. XV th Int. Vet. Congr. 5, 159.
68. KNUDSEN O., BRYNE N., 1960. The spermiocytogenesis of the bull. Acta. Vet. Scand. 1, 140-160.
69. KNUDSEN O., 1961. Sticky chromosomes as a cause of testicular hypoplasia in bulls. Acta. Vet. Scand. 2, 1-14.
70. KOULISCHER L., 1967. Mammalian cytogenetics. Description of a whole blood culture technique with autologous plasma. Acta Zool. et Path. Antverpiensia, 44, 119-123.
71. KOULISCHER L., TIJSKENS J., MORTELMANS J., 1967. Mammalian cytogenetics I. The chromosomes of three species of Bovidae : Bos taurus, Bison bonasus and Cephalopus grimmi. Acta. Zool. et Path. Antverpiensia 43, 135-141.
72. KOULISCHER L., TIJSKENS J., MRTELMANS J., 1967. Mammalian cytogenetics II. The chromosomes of a male sitatunga (Tragelaphus spekeii SCALTER) Acta. Zool. et Path. Antverpiensia 43, 143-147.
73. KRALLINGER H., 1928. Gibt es einen Spermatozoendimorphismus beim Hausrind ? Zugleich eine Chromosomenstudie und ein Beitrag zur Kritik der Chromosomenlehre. Arb. dt. Ges. Züchtungsk. 40, 1-43 (Cité par MAKINO, 1944).
74. KRALLINGER H.F., 1931. Cytologische Studien an einigen Haussgetieren. Arch. Tievernähr. Tierzucht. Abt. B. 5.
75. KRUTSCHOV G., BERLIN E.A., 1935. Cytological investigation on cultures of normal human blood. J. Genet. 31, 243-261. Cité par TURPIN et LEJEUNE, 1965.
76. KUKE BAT-OCIRYM, 1965. The hybridisation of the Yak with cattle in Mongolian People's Republic. An. Breed. Abs. 23 (4).
77. KUSHNER H.F., 1939. The blood composition in Yaks, in cattle and their hybrids in connection with the heterosis of the hybrids. An. Breed. Abs. 5 (2).

78. LAUVERGNE J.J., VISSAC B., PERRAMON A., 1963. Etude du caractère culard. I. Mise au point bibliographique. *Annls Zootech.* 12, 135-156.
79. LAVAPPA K.S., YERGANIAN G., 1970. Spermatogonial and meiotic chromosomes of the armenian hamster, *Cricetus tulus migratorius*. *Exp. Cell. Research* 61, 159-172.
80. LAY D.M., NADLER C.F., 1969. Hybridisation in the rodent genus *Meriones*. I. Breeding and cytological analysis of *Meriones shawi* (♀) x *Meriones libyensis* (♂) hybrids. *Cytogenetics* 8, 35-50.
81. LEJEUNE J., GAUTIER M., TURPIN R., 1959. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *C.R. Acad. Sci.* 248, 1721-1722.
82. LEUCHTENBERGER C., SCHRADER F., HUGUES-SCHRADER S., GREGORY P.W., 1956. Certain cytochemical and cytological aspects of dwarfism in cattle. *J. Morph.* 99, 481-512.
83. LEJEUNE J., TURPIN R., GAUTIER M., 1960. Etude des chromosomes somatiques humains. Technique de culture de fibroblastes "in vitro". *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.* 5, 406-408.
84. LEVAN A., HSU T.C., STICH H.F., 1962. The idiogram of the mouse. *Hereditas* 48, 677-687.
85. LEVAN A., FREDGA K., SANDBERG A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52, 201-220.
86. LUCIANI J.M., 1970. Les chromosomes méiotiques de l'homme. I. La méiose normale. *Annls. Génét.* 13, 101-111.
87. LUCIANI J.M., 1970. Les chromosomes méiotiques de l'homme. II. Le nucléole. Les chiasmes. III. La stérilité masculine. *Annls. Génét.* 13, 169-182.
88. MAC ILREE M.E., PRICE W.H., COURT-BROWN W.N., TULLOCK W.S., NEWSAM J.E., MAC LEAN M., 1966. Chromosome studies on testicular cells from 50 subfertile men. *Lancet* 2, 69-71.

89. MC FEE A.F., BANNER, M.W., MURPHREE W.L., 1965. Chromosome analysis of peripheral leucocytes of the sheep. J. Anim. Sci. 24, 551-554.
90. MAKINO S., 1941. Cytological investigations of mice included in the genus Mus. J. Fac. Sci. Hokkaido. Univ. Ser. 7, 305-380.
91. MAKINO S., 1944. Karyotypes of domestic cattle, zebu, and domestic water buffalo (chromosomes studies in domestic mammals N.) Cytologia (Tokyo) 13, 247-264.
92. MAKINO S. 1944. A contribution to the study of the chromosomes of domestic mammals (Jap.) Zool. Mag. Jap. 56, 8-15.
93. MAKINO S., 1943. Preliminary reports on the chromosomes of domestic mammals. II. Sheep and goat. Jap. J. Genet. 19, 135-136.
94. MAKINO S., SOFUNI T., SASAKI MASAO, 1963. A revised study of the chromosomes in the Horse, the Ass and the Mule. Proc. of the Japan Acad. 39 (3).
95. MANDEL P., METAI P., CUNNY S., 1950. Les quantités d'acide désoxy-pentose-nucléique par leucocyte chez divers espèces de mammifères. C.R. Acad. Sci. Paris, 231, 1172-1174.
96. MASUI K. 1919. The spermatogenesis of domestic mammals. II. The spermatogenesis of cattle (Bos taurus) J. Coll. Agric. Tokyo, 3, 377-403 (Cité par MAKINO, 1944).
97. MATTHEY R., 1949. Les chromosomes des vertébrés. Rouge éd. Lausanne.
98. MATTHEY R., 1965. Un nouveau type de chromosome sexuels multiples chez une souris africaine du groupe Mus (Leggada) minutoides (Mammalia-Rodentia) Mâle X_1 , X_2 Y. Femelle $X_1 X_2/X_1 X_2$. Chromosoma 16, 351-364.
99. MAYR E., 1963. Animal species and evolution. The Belknap Press of Harvard-University Press. Cambridge Mass.

100. MELANDER Y., KNUDSEN O., 1953. The spermiogenesis of the bull from a karyological of view. Hereditas (Lund) 34, 505-517.
101. MELANDER Y., 1957. On the chromosome complement of some domestic animals. Ark. Zool. Stockholm. Ser. 2, 11-122.
102. MELANDER Y., 1959. The mitotic chromosomes of some cavicorn mammals Bos taurus L., Bison bonasus L. and Ovis aries L. Hereditas (Lund) 45, 649-664.
103. MITTWOCH U., 1967. Sex chromosomes. Academic Press. New-York, Lond.
104. MOORHEAD P.S., NOWELL P.C., MELLMAN W.L., BATTIPS A.M., HUNGER-FORD D.E., 1960. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp. Cell. Res. 20, 613.
105. MORRIS D., 1965. The mammals. A guide to the living species. New-York and Evanston : Harpen and Row.
106. NADLER C.F., 1965. Chromosomes of the ground squirrel (Spermophilus beldingi) and report of an aberrant karyotype in a phenotypically normal female. Cytogenetics 4, 37-44.
107. NICHOLS W.W., LEVAN A., LAWRENCE W.C., 1962. Bovine chromosome by the peripheral blood method. Hereditas (Lund) 48, 536-538.
108. NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A., 1960. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukaemia. Science 132, 1497.
109. OHNO S., BECAK W., BECAK M.L., 1964. X-autosome ratio and the behaviour pattern of individual X-chromosome in placental mammals. Chromosoma (Berl.) 15, 14-30.
110. OHNO S., 1965. A phylogenetic view of the X-chromosome in man. Ann. Génét. 8, 3-8.

111. OHNO S., 1967. Sex chromosomes and sex-linked genes. Springer verlag. Berlin. Heidelberg. New-York.
112. OHNO S., 1968. The mammalian genome in evolution and conservation of the original X linkage groupe. In comparative Mammalian Cytogenetics ed. par K. BENIRSCKE.
113. OHNO S., 1970. Evolution by gene Duplication. Springer verlag. Berlin. Heidelberg. New-York.
114. ORTAVANT R., 1959. Spermatogenesis and Morphology of the Spermatozoon. In. Reproduction in Domestic Animals, vol. II. Academic Press. N. Y. London.
115. OUHAYOUN J., HULOT FRANÇOISE, ARNAL T., GILLOIS M., BEAUMONT A. 1964. Note préliminaire sur l'étude histologique des bovins culards. Journées d'études de la Fédération Européenne de Zootechnie. Lisbonne Oct. 9 p.
116. OUHAYOUN J., BEAUMONT A. Anatomie microscopique comparée du tissu musculaire de taureau charolais normaux et culards. Ann. Zootech. 17, 213-223.
117. PAINTER T.S., 1921. The Y chromosome in mammals. Science 53, 503. Cité par TURPIN et LEJEUNE, 1965.
118. PATAU K., SMITH D.W., THERMAN E., INHORN S.L., WAGNER H.P., 1960. Multiple congenital anomaly caused by an extra-chromosome. Lancet. i, 790-793.
119. PAYNE N.W., ELLSWORTH K., DE GROOT A., 1968. Aneuploidy in an infertile mare. J.A.V.M.A., 153, 1293-1299.
120. PERMAIN G.E., LYCETTE R.R., FITZGERALD P.H., 1963. Tuberculin induced mitosis in peripheral blood leucocytes. Lancet i, 637-638.
121. PETERS H.F., 1964. Experimental hybridisation of domestic cattle and american bison. V th. Int. Anim. Reprod. 7, 326-332.
122. PODLIACHOUCK L., VAN DER PLASSCHE M., 1968. Discussion VI° Cong. Int. reprod. anim. insemin. artif. Paris. p. 871.

123. POND W.G., ROBERTS S.J., SIMMONS K.R., 1961. True and pseudo-hermaphroditism in swine herd. Cornell. Vet. 51, 394-404.
124. POPESCU C.P., GRANCIU I., 1965. Cercetari asupra cariotipului normal la taurine. Prob. de Zoot. si Med. Vet. 10.
125. POPESCU C.P., 1968. Technica de microcultura din sange periferic pentru studiul cromosomilor la animale domestice. St si Cerc. Biol. Seria. Zoologie. 20, 421-422.
126. POPESCU C.P., 1969. Idiograms of Yak (Bos grunniens) cattle (Bos taurus) and their hybrid. Ann. Génét. Sél. Anim. 1, 207-217.
127. POPESCU C.P., 1970. Le rapport X-autosomes des quelques espèces d'animaux domestiques. In Europäisches kolloquium über Zytogenetik (Chromosomen pathologie) in Veterinärmedizin und Säugetierkunde. Giessen 12 und 13 Oktober 1970. pag. 101-107.
128. POSTIGLIONI-GRIMALDI J., 1956. Pretratamiento con soluciones hipotonicas y reaccion nucleal de Feulgen. Rossenbeck para el estudio de los cromosomas en el toro (Bos taurus). An. Fac. Vet. Urug. 6, 31-37.
129. POSTIGLIONI-GRIMALDI J., 1957. Cromosomas del toro. Antecedentes y estado actual de su conocimiento. Congr. Nac. vet. Urug. 1, 659-689.
130. REITALU J., 1970. Observations on the behavioral pattern of the pattern of the sex chromosome complex during spermatogenesis in man. Hereditas 64, 283-290.
131. ROTHFELS K.H., SIMINOVITCH L., 1958. The Chromosome Complement of the Rhesus Monkey (Macaca mulatta) Determined in Kidney Cells Cultivated in Vitro. Chromosoma (Berl.) 9, 163-175.
132. RUDDLE F.H., 1961. Chromosome variation in cell populations derived from pig kidney. Cancer. Res. 21, 885-894.
133. SACHS L., 1954. Sex linkage and the sex chromosom in man. Ann. Eugenics 18, 255-261.

134. SACHS L., 1955. The possibilities of crossing-over between the sex chromosomes of the house mouse. *Genetica* 27, 309-322.
135. SASAKI M.S., MAKINO S., 1962. Revised study of the chromosomes of domestic cattle and the horse in somatic cells in vitro. *J. Hered.* 53, 157-162.
136. SASAKI M., MAKINO S., 1965. The meiotic chromosomes of man. *Chromosoma (Berl.)* 16, 637-651.
137. SCHOENFELD H., 1902. La spermatogénèse chez le taureau et chez les mammifères en général. *Arch. Biol. (Liège)* 18, 1-71. Cité par MAKINO, 1944.
138. SHARMAN G.B., 1956. Chromosomes of the common shrew. *Nature Lond.*) 177, 941-942.
139. SHIVE R.J., HARE W.C.D., PATTERSON D.F., 1965. Chromosomes studies in dogs with congenital cardiac defects. *Cytogenetics* 4, 340-348.
140. SHIWAGO P.I., 1931. Karyotypische Studien un Ungulaten I. Veber die Chromosomen komplexe des Schape und Ziegen. *Zeitsch. Zellfarch. Mikr. Anat.* 13, 511-522. Cité par BOMSEL-HELMREICH, THIBAUT, 1967.
141. SOKOLOV I., 1930. The chromosomes in spermatogenesis of the goat (*Capra hircus*) *Akad. Nank. Leningrad. Bull. Bureau Genet.* 8, 63-76.
142. SOLARI A.J., 1964. The morphology and ultrastructure of the sex vesicle in the mouse. *Expl. Cell. Res.* 36, 160-168.
143. SOLLER M., WYSOKI M., PADEH B., 1966. A chromosomal abnormality in phenotypically normal Saanengoats. *Cytogenetics* 5, 88-93.
144. SWANSON P.K., 1957. *Cytology and Cytogenetics*. Prentice Hall Inc.
145. THIBAUT C., BOMSEL-HELMREICH O., 1963. Variation naturelle ou provoquée du nombre de chromosomes chez les mammifères (Poïkiloploïdie et hétéroploïdie) *Z. Tierz. Zücht. Biolog* 76, 364-387.

146. TJIO J.H., LEVAN A., 1956. Note on the sex chromosomes of the rat during male meiosis. *Anales Estac. Exptl. Aula Dei* 4, 173-184.
147. TJIO J.H., WHANG J., 1962. Chromosome preparation of bone marrow cells without brriar in vitro culture or in vivo colchicine administration. *Stain Technol.* 37, 17-20.
148. TRUBOWITZ S., KIRMAN D., MASEK B., 1962. The leucocyte alkaline phosphatase in mongolism. *Lancet* ii, 486-487.
149. TURPIN R., LEJEUNE J., 1965. *Les chromosomes humains*. Gauthier-Villars. Paris.
150. ULBRICH E., WEINHOLD E., PFEIFFER R.A., 1963. Preparation of bovine chromosomes. *Nature (Lond.)* 199, 719.
151. WINIWARTER H. de, 1912. Etudes sur la spermatogenèse humaine. *Arch. Biol.* 27, 91-189. Cité par TURPIN et LEJEUNE, 1965.
152. WOLF U., FRINSPACH H., BOHM R., OHNO S., 1965. D.N.S. Reduplications muster bei den Riesen-Geschlechtschromosomen von *Microtus agrestis* *Chromosoma (Berl)* 16, 609.
153. WURSTER D.H., BENIRSCHE K., 1967. The chromosomes of twenty-three species of the Cervoidea and. Bovoidae. *Mammal. Chromosomes News* 8, 226-229.
154. WURSTER D.H., BENIRSCHE K., NOELKE H., 1968. Unusually large sex chromosome on the sitatunga (*Tragelaphus spekei*) and the black buck (*Antilope cervicapra*). *Chromosoma (Berl.)* 23, 317.
155. WURSTER D.H., BENIRSCHE K., 1968. Chromosome studies in the Superfamily Bovoidae. *Chromosoma (Berl)* 25, 152-171.
156. WYSOKI M., PADEH B., VOLCANI R., 1969. Chromosomes of cattle (*Bos taurus* L.) obtained from peripheral blood and from tissue culture of the testicles and epididymis. *The Volcani Inst. of Agric. Res. Rep.* N. 641.

157. ZARTMAN D.L., FECHHEIMER N.S., 1967. Somatic aneuploidy and polyploidy in inbred and linecross cattle. J. Anim. Sci. 26, 678-682.
158. ZUITIN A.I., 1935. On the chromosomes of the Yak (*Poephagus grunniens* L.) Dokl. Akad. Nank. SSSR for Lond. Edn 4, 81-83.
159. ZUITIN A.I., 1938. New data on the chromosome number in yak (*Poephagus grunniens* L.) Dokl. Akad. Nank. S.S.S.R. for Lang. Edn. 19, 201-202.

